АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXI. ВЫП. 3

МАЙ—ИЮНЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1952

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2 КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

ОТ РЕДАКЦИИ

ИТОГИ ДИСКУССИИ ПО ВОПРОСАМ СЕЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Для развития современной технической микробиологии характерно необычайно широкое практическое применение различных микроорганизмов. Число биохимических производств с каждым десятилетием увеличивается, возникают новые отрасли промышленности, целиком связанные с применением микроорганизмов. Достаточно указать на антибиотическую, ферментную, витаминную промышленности, освоение новых видов брожения и т. д. В некоторых случаях, например, при получении «грибного солода» в ферментной промышленности, микроорганизмы не только успешно конкурируют с высшими растениями, но и вытесняют их, так как в экономическом отношении культивирование микроорганизмов оказывается более целесообразным. Все это предъявляет к общей и технической микробиологии требования, связанные с поисками новых практически ценных форм микробов и улучшением свойств уже применяемых культур.

По сравнению с селекцией высших растений селекция микроорганизмов начала развиваться значительно позднее, и как отдельная дисциплина она еще не сформировалась. Число исследований, посвященных селекции микробов, сравнительно невелико, тогда как по изменчивости микроорганизмов накоплен огромный фактический материал. Однако он носит преимущественно описательный и теоретический характер. Развитие учения Мичурина в микробиологии неразрывно связано с созданием новых ценных культур микроорганизмов, необходимых для народного хозяйства.

В связи с этим журнал «Микробиология» организовал дискуссию по вопросам селекции. Следовало выяснить, чем располагает современная общая и техническая микробиология для направленного изменения природы микробов, и в результате проведенной дискуссии дать оценку различным подходам и методам. Вначале была помещена статья В. И. Кудрявцева «О непрерывной селекции микроорганизмов из производства»[1] и статья от редакции, в которой содержалось обращение ко всем советским микробиологам, интересующимся вопросами селекции. Редакция просила принять участие в открываемой дискуссии.

В дальнейшем на страницах журнала были опубликованы 14 статей, посвященных задачам и методам селекции микроорганизмов. Из них 13 статей были написаны микробиологами, работающими в отраслевых научно-исследовательских институтах, и одна статья принадлежала автору, работающему в Академии Наук СССР. Таким образом, в дискуссии приняли участие представители различных отраслей промышленности.

Статья В. И. Кудрявцева была посвящена селекции дрожжей, поэтому подавляющее большинство присланных в редакцию статей также имело непосредственное отношение к селекции дрожжевых организмов. Только две статьи были посвящены селекции бактерий и две статьи —

[1] Микробиология, XX, вып. 2, 1951 г.

вопросам отбора практически ценных культур плесневых грибов. Таким образом, селекционная работа с бактериями и плесневыми грибами, к сожалению, была освещена менее подробно, чем селекция дрожжей.

Почти все авторы, выступившие в печати, подчеркнули своевременность проведения дискуссии по этой проблеме и указали на необходимость организации аналогичных дискуссий в дальнейшем.

Прежде чем перейти к анализу ряда положений, затронутых в этих статьях и касающихся селекции микроорганизмов, следует очень кратко резюмировать содержание статьи В. И. Кудрявцева. Он считает, что за последние десятилетия, благодаря музейному хранению культур и благодаря тому, что промышленная микробиология перестала вести систематический отбор более активных форм из производства, наблюдается ослабление культур бродильных микроорганизмов, хранящихся в музеях. Поэтому он рекомендует для изменения микроорганизмов в нужную нам сторону производить непрерывный отбор из производства наиболее активных культур и последующее применение их в практике. Естественно, что для более детального ознакомления с содержанием статьи читателям необходимо обратиться к оригиналу.

О положительных сторонах метода непрерывного отбора из производства

Тезис В. И. Кудрявцева о том, что некоторые бродильные микроорганизмы возникли в результате бессознательного отбора человеком и были «сформированы» производством, совершенно правилен. В первую очередь это относится к культурным дрожжам, обладающим рядом физиологических особенностей, подтверждающих такой путь их образования.

Многие советские и иностранные ученые подчеркивают способность Saccharomyces cerevisiae сбраживать определенные декстрины. Это один из признаков, отличающих культурные дрожжи от других видов, в частности Saccharomyces ellipsoideus.

Вполне вероятно, что на протяжении столетий, может быть и тысячелетий, стихийная селекция, происходившая в производствах, привела к возникновению одомашненных, активно бродящих форм. В. И. Кудрявцев связывает с таким окультуриванием наличие в дрожжевых клетках фермента мальтазы. Подчеркивая редкое нахождение мальтозы в растительных тканях, автор делает отсюда вывод, что в природе мальтоза встречается редко. С этим едва ли можно согласиться, так как необходимо исходить не из статической биохимии, а из динамики биохимических превращений, которые наблюдаются в природе. Общеизвестно, что значительное количество крахмала, содержащегося в растениях, разлагается в природе при участии микроорганизмов, имеющих амилазу, и в результате этого процесса образуется мальтоза. Именно этим объясняется, почему фермент мальтаза так широко распространен у диких почвенных грибов и бактерий, которые не могут быть причислены к культурным, одомашненным формам.

Гораздо правильнее считать, что в результате бессознательной селекции возникли формы, обладающие высокой энергией спиртового брожения. Человек, создавая условия существования, благоприятные для спиртового брожения, получил формы, образующие максимальное количество спирта в минимальные сроки.

Основным преимуществом метода непрерывного отбора культур из производства следует считать тот факт, что применяемые в производстве микроорганизмы всегда будут представлять собой единство с условиями производства. Находясь в производстве, микроорганизмы будут в совершенстве приспособлены ко всем особенностям существования, и естественно, что по сравнению с музейными формами они будут лучше приспособлены к этим условиям. Выполняя определенную функцию, все ферментные системы микроорганизма будут работать наиболее ак-

тивно и давать максимальный выход нужных продуктов. Такое влияние производственных условий особенно резко будет выражено в тех случаях, когда разница между существованием в музее и в производстве будет особенно значительна.

Нельзя согласиться с мнением Л. И. Чекана, считающего, что при непрерывном размножении микроба в производстве должно закономерно наступать ослабление культуры. Такое явление возможно, о чем мы будем говорить ниже, но оно не обязательно.

Правильно подчеркивая положительные стороны непрерывного отбора из производства, В. И. Кудрявцев переоценил достижения иностранных промышленников. Так, говоря о пивоваре Якобсоне, который работал в течение ряда лет с несменяемой культурой дрожжей, В. И. Кудрявцев пишет: «Ни один современный пивоваренный завод не может похвастать такими результатами, хотя техническое оборудование и санитарно-гигиеническое состояние их сейчас во много раз лучше, чем это было раньше».

С этим утверждением не согласился ряд микробиологов, выступивших на страницах журнала «Микробиология». Многие из принявших участие в дискуссии совершенно правильно подчеркивали достижения нашей отечественной микробиологии в области селекции микроорганизмов, полученных при помощи метода отбора культур из производства. Был приведен ряд примеров получения активных культур дрожжей русскими и советскими микробиологами и применяемых сейчас в спиртовой промышленности, виноделии, дрожжевом производстве и пивоварении. Имелись также ссылки на ряд культур уксуснокислых и молочнокислых бактерий, полученных путем отбора из производства и нашедших широкое практическое применение.

Мы не будем вновь перечислять фамилии авторов, получивших эти культуры, названия микроорганизмов и конкретные области их применения. Все это подробно освещено в статьях Е. И. Квасникова, И. Я. Веселова, Л. И. Чекана, К. В. Косикова, О. М. Силищенской и др.

К сожалению, В. И. Кудрявцев не использовал достаточно широко этот материал, чтобы подчеркнуть те возможности, которые открывает метод отбора из производства. Не содержала его статья также результатов собственных исследований в этом направлении.

Достоинства этого метода были отмечены в статьях И. М. Рябченко, Н. И. Каюковой, С. С. Лещинской и Г. И. Мосиашвили, которые сообщили об интересных результатах, полученных при помощи данного метода.

Нельзя согласиться с мнением К. В. Косикова, принявшего участие в дискуссии и считающего, что непрерывная селекция из производства почти не заслуживает внимания.

Таким образом, мы видим, что непрерывный отбор из производства представляет собой метод, имеющий определенную область применения, определенные возможности, и может быть рекомендован как один из методов селекции.

Можно ли считать непрерывный отбор из производства ведущим методом селекции?

Области применения метода

Современные биохимические производства столь разнообразны по технологии, что давать общие рекомендации в области селекции фактически невозможно. Необходимо тщательно индивидуализировать подходы, исходя из конкретных условий данного производства и особенностей, применяемых в нем микроорганизмов. Область применения непрерывного отбора из производства суживается благодаря тому, что в некоторых случаях этот метод не может быть применен вообще. Так, известен

ряд производств, в которых при длительном употреблении одной и той же культуры наблюдается не усиление ее, как предусматривает метод непрерывной селекции, а ослабление. Естественно, что понижение активности зависит от незнания тонких особенностей физиологии питания микроорганизмов и тех условий, которые необходимы для развития данного микроба, независимо от влияния посторонних микробов (инфекции). Ослабление культур бактерий, разлагающих пектиновые вещества, общеизвестно. С вырождением культур сталкиваются в ацетонобутиловом производстве, при размножении молочнокислых бактерий, и др.

В некоторых биохимических производствах в каждом технологическом цикле предусматривается применение свежих музейных культур. В этих случаях определенный штамм находится в условиях производства в течение очень короткого периода, и максимальное образование ценного продукта наблюдается во вторую фазу производственного процесса, когда культура лизируется и непригодна для селекции. Здесь также трудно ожидать значительного изменения в смысле повышения активности культуры микроба. Следует также учесть, что приобретение устойчивости к посторонним микроорганизмам (инфекции) — свойство, которое не всегда может возникнуть, ибо многие производственные процессы ведутся в стерильных условиях, исключающих возможность развития других организмов. Это касается антибиотической промышленности, ферментной промышленности и др. Однако даже в тех случаях, когда условия производства «нестерильны», не обязательно должно произойти улучшение свойств культуры. Поэтому правильны замечания, сделанные Л. И. Чеканом, а также Е. И. Квасниковым, о том, что выделение культур из производства, где имеются посторонние микроорганизмы, может приводить не только к желательному усилению функции производственной культуры, но и к ее ослаблению, как результат воздействия посторонних микроорганизмов.

Возможности метода

Метод непрерывного отбора из производства представляет собой как бы продолжение того длительного процесса, который создал культурные формы. Следует, однако считаться с тем, что возникновение культурных форм происходило в течение очень длительного отрезка времени. Поэтому ожидать значительных сдвигов в физиологии микроба в течение короткого срока едва ли возможно.

В статье О. М. Силищенской указывается, что из 500 выделенных из производства культур дрожжей не было ни одной, которая бы значительно отличалась по своей активности от исходной культуры. Анализ цифр, приведенных в статье С. С. Лещинской, опубликованной в журнале «Микробиология», также говорит о сравнительно незначительных изменениях.

Следовательно, положительный эффект может быть получен в течение длительного срока путем накопления тех небольших изменений, которые возможны в условиях производства.

Далее необходимо добавить, что в современных условиях производства исключительное значение приобретает строгое соблюдение регламента. Чем стандартнее условия существования микроорганизма, тем больше шансов получить постоянно высокие выхода. Всякое значительное отклонение от установленного режима всегда приводит к снижению выходов.

В связи с этим естественно возникает вопрос: может ли происходить значительное расшатывание наследственности микроорганизмов в том случае, если условия существования микроорганизма постоянно стандартны? На этот вопрос необходимо ответить отрицательно. Только при

воздействии необычных условий, при значительном расшатывании консерватизма наследственности могут возникать новые культуры микробов с измененной наследственностью. Допускать, что в условиях, соответствующих потребностям организма, постоянно возникают резко измененные формы,— это значит встать на позицию мутационизма. В некоторых биохимических производствах состав среды и условия культивирования настолько бывают стандартными, что ни о каком сильном расшатывании наследственности говорить не приходится. Особенно это касается случаев культивирования грибов или бактерий на синтетических средах строго определенного состава. Но и в производствах, основанных на применении растительного сырья, тоже существуют однотипные технологические схемы получения сусла. Поэтому едва ли правильно говорить о возможности приспособления микроба к условиям определенного завода. Совершенно очевидно, что чем разнообразнее сбраживаемый материал, чем разнообразнее условия производства, связанные с местными климатическими и другими моментами, тем больше шансов получить путем отбора из производств формы, отличающиеся от исходной культуры.

Это положение подтверждается, в частности, тем что особенно удачно отбор дрожжей из производства осуществляется в виноделии, хлебопечении, производстве уксуса, где ряд процессов не стандартизован.

Что же касается других производств, то там условия иные. Все изложенное выше делает понятным, почему при выделении культур из производства обычно не удается получить культур с резко измененными свойствами.

О пассивных и активных методах селекции

Для современного творческого дарвинизма характерно активное изменение природы микроорганизмов и последующее их применение в практике. Этот метод с полным основанием может быть назван активным методом, так как экспериментатор, изменяя условия существования микроорганизма, как бы «лепит» формы, необходимые практике.

В противоположность этому отбор из производства представляет собой пассивный метод, основанный на изменениях, возникающих в результате влияния условий производства.

Теоретические основы современного биохимического производства исключают возможность изменения регламента производства и тем самым исключают возможность значительной переделки природы микроба. В противоположность этому в лабораторных условиях исследователь может создать любые условия и его возможности в этом отношении почти беспредельны. Он может создать необходимую концентрацию углеводов в среде, осуществить выращивание микроорганизмов в среде с любыми ядами или антисептиками, приучить культуру микроорганизма к низким или высоким температурам, высокой концентрации спирта, различным антибиотикам и т. д.

В качестве конкретных примеров следует указать на приучение дрожжей к значительной щелочности или кислотности среды, на приспособление плесневых грибов к антисептикам, что может представить практический интерес при поверхностном выращивании грибов, применяемом для получения ферментных препаратов.

Известно, что повышение выходов при ацетонобутиловом брожении лимитировано чувствительностью ацетонобутиловых бактерий к накапливающемуся в среде бутанолу. В связи с этим теоретически вполне вероятно, что приучение бактерий к бутанолу в лабораторных условиях позволит в дальнейшем употреблять более концентрированные заторы.

Примером такого предварительного экспериментального изменения наследственности микроорганизма и последующего применения возникшей расы в новых условиях производства может служить получение

культур микробов, применяемых для определения витаминов и аминокислот, а также активной расы Penicillium chrysogenum. Как известно, по литературным данным, из дикой культуры Penicillium chrysogenum была получена производственная раса, в 70 раз более активная, чем исходная форма. Вновь полученная раса представляла собой форму, требующую для более полного выявления всех своих новых свойств совершенно иных условий, в частности глубинного культивирования, добавления предшественников пенициллина к среде и т. д.

Вполне естественно, что даже многократное выделение из производства диких форм Penicillium не привело бы скоро к возникновению такой высокоактивной формы.

Менее разработаны принципы направленного усиления биохимических свойств микроорганизмов. Здесь исключительное значение приобретает углубленное изучение обмена веществ микробов, управление последним и должно привести к необходимым изменениям микроорганизма. Не менее важно изучение стадийности развития микробов так как оно имеет непосредственное отношение к получению новых форм, к постановке правильных экспериментов в области направленной изменчивости. На значение стадийности развития совершенно правильно было указано в статье З. Э. Беккер, опубликованной в связи с дискуссией.

Таким образом, микробиолог, получив измененные культуры, в дальнейшем изменяет регламент производства в соответствии с новыми потребностями организма. При современной технике исследований экспериментатор может в значительной степени приблизиться в условиях лаборатории к условиям производства. Однако это не значит, что в дальнейшем перед внедрением культуры не может возникнуть необходимость в дополнительной адаптации микроба к производственным условиям, в частности к условиям культивирования в больших объемах.

Таким образом, метод отбора из производства должен быть отнесен к пассивным методам, тогда как переделка природы микробов и последующие изменения самого производства соответственно новым потребностям активной формы микроорганизма следует отнести к активным методам селекции.

В своей статье В. И. Кудрявцев рассматривает непрерывный отбор как основной метод селекции, а направленное воспитание и гибридизацию — как второстепенные, вспомогательные. С этим нельзя согласиться, и совершенно справедливо многие участники дискуссии подчеркнули ошибочность такой концепции (Л. И. Чекан, Р. В. Фениксова, К. В. Косиков, Е. И. Квасников, И. Я. Веселов).

Сравнительная оценка существующих методов селекции

На протяжении двух последних лет состоялись две конференции, на которых обсуждались вопросы селекции микробов. Это всесоюзная конференция по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов, проведенная Институтом микробиологии Академии Наук СССР в 1951 г., и конференция по вопросам микробиологии, созванная Институтом виноделия «Магарач» в 1950 г. в Ялте. В результате дискуссий, происходивших на этих конференциях, была внесена ясность в ряд вопросов, связанных с селекцией микроорганизмов и дана оценка различным существующим методам. В резолюции, принятой Всесоюзной конференцией по направленной изменчивости и селекции, указано, что основным ведущим для творческого советского дарвинизма методом изменения природы микробов следует считать направленную изменчивость, которая достигается либо путем культивирования микроорганизмов в измененных условиях существования, либо путем наведения свойств (вегетативная гибридизация). Хотя последний метод и дал

интересные результаты в исследованиях с кишечной группой бактерий, но в области селекции микробов необходимо выяснить перспективы данного метода.

К этой же категории направленных изменений следует отнести те изменения обмена веществ и последующие морфологические изменения, которые возникают у микроорганизмов в лабораторных условиях культивирования. Эти изменения, в том числе и так называемая диссоциация, адэкватны данным условиям жизни микробов и представляют собой частный случай направленной изменчивости.

Далее Всесоюзная конференция по изменчивости подчеркнула, что применение сильнодействующих факторов не может быть ведущим методом селекции. Однако если получаемые таким способом менее жизнеспособные с извращенным обменом веществ формы могут найти практическое применение, то этот метод также может быть использован. И, наконец, для микроорганизмов, имеющих половой процесс, была признана возможность получения ценных форм путем половой гибридизации. Конференция отметила также важность изучения роли живого вещества и фильтрующихся форм микробов в их развитии и изменчивости.

Все перечисленные пять методов представляют собой методы экспериментальные, связанные с изменением микроорганизмов в условиях лаборатории.

Одновременно в резолюции была отмечена необходимость продолжать поиски полезных форм в природе, а также осуществлять селекцию микроорганизмов путем отбора из производства. Оба эти метода не связаны с активной переделкой природы микроорганизма, осуществляемой по воле экспериментатора. Он только пользуется тем, что в одном случае дает ему природа, в другом — производство.

О музейных культурах

Некоторые из микробиологов, участвующих в дискуссии, проводимой на страницах журнала, правильно указали, что говорить о ликвидации музеев культур микроорганизмов нецелесообразно.

Конечно, нельзя отрицать, что микроорганизмы, попадая из почвы, воды, растительного сырья и т. п. в условия музея, подвергаются исключительно резкой перемене условий жизни, в результате которой меняется и обмен веществ. На это обстоятельство неоднократно указывал С. Н. Виноградский и другие микробиологи. Вполне естественно, что микроорганизмы, привыкшие существовать, например, в воде, содержащей небольшую концентрацию органических веществ, при перенесении их в МПБ резко меняют свой метаболизм, и это приводит к значительным изменениям свойств микроба. Культура микроба, попадая в условия музея, начинает терять свои природные свойства и превращается в музейную форму. Этот процесс представляет собой первый этап одомашнивания.

Повидимому, такие изменения характерны для диких форм микробов, выделенных из природы.

Что касается культур дрожжей, то наиболее старые по своему происхождению культурные формы дрожжей иногда в течение длительного времени пребывания в музее полностью сохраняют свою активность. Так, по данным О. М. Силищенской, расы дрожжей II. M; Я. XII и другие в течение 20 лет хранения в музее не ослабевали. Выход спирта на тех заводах, где применялись чистые культуры дрожжей, был на 1,9% выше, чем на производствах, где применялись дрожжи без смены.

Совершенно естественно, что современный музей практически ценных культур микроорганизмов не должен представлять собой только «хранилище». В нем должна вестись напряженная научно-исследовательская работа. Задачи последней в основном сводятся к следующему.

1. Разработка принципов дальнейшей селекции путем направленной изменчивости.

2. Изучение методов сохранения ценных производственных свойств. В частности совершенно очевидно, что в музеях для культур должны быть созданы условия, равные тем условиям, в которых данный микроорганизм будет функционировать в производстве. Это касается осмофильных, ацидофильных, термофильных, психрофильных и других рас бактерий, дрожжей и грибов. Пересевы культур при обычных условиях, конечно, приведут к потере перечисленных выше свойств. Однако это не значит, что в некоторых случаях условия культивирования в музее не могут быть иными, чем производственные условия. В частности известно, что производственная культура микроорганизма может хорошо перенести однократное неблагоприятное воздействие физического или химического характера и дать хорошие выхода. При культивировании же микроба в этих условиях все время она вырождается. Это относится например, к дрожжам, вызывающим спиртовое брожение в сильно щелочной среде.

В качестве другого примера можно указать на микроорганизмы, продуцирующие антибиотики в условиях производства, размножаются в среде, содержащей токсичные для микроба предшественники антибиотика. Однако в музее они существуют на среде, лишенной ядовитых предшественников. Теоретически возможно получение форм, адаптированных к токсичным предшественникам и можно предполагать, что такая адаптация будет сопровождаться повышением биосинтеза антибиотика. Однако судя по литературным данным, до настоящего времени культуры в музеях хранятся на средах, не содержащих предшественников антибиотика.

3. В музее должны также вестись исследования по выяснению причин вырождения культуры, если такое вырождение наблюдается.

4. Безусловно необходимо вести в музее исследования по систематике практически ценных культур микроорганизмов.

Однако необходимо считаться с тем, что находящиеся в музее культуры в некоторых случаях теряют практически ценные свойства. Это приводит к необходимости даже при соблюдении всех предосторожностей после выделения активной культуры сразу запасать посевной материал на длительный срок. С этой целью приготовляют стандартный материал, содержащий споры бактерий, или культуры микроорганизмов подвергаются лиофильной сушке.

Таким образом, музейное хранение культур должно быть сохранено, но с соответствующими изменениями режима поддержания культур. Централизованное снабжение различных отраслей промышленности культурами из музеев, имеющих квалифицированные научные силы,— наиболее надежный способ обеспечить эффективную работу промышленных предприятий.

О НЕОБХОДИМОСТИ УГЛЕКИСЛОТЫ ДЛЯ БАКТЕРИЙ, ОКИСЛЯЮЩИХ СОРБИТ В СОРБОЗУ

Н. М. Митюшова

Участие углекислоты воздуха в обмене гетеротрофных микроорганизмов является одним из тех вопросов физиологии, которые продолжают привлекать внимание исследователей (5, 2).

Виноградский впервые показал, что углекислота используется некоторыми бактериями в качестве единственного источника углерода.

С открытием этих бактерий микроорганизмы были распределены на две группы в зависимости от отношения их к углекислоте: на небольшую группу автотрофов, для которых углекислота необходима как источник углерода, и на гетеротрофов, составляющих огромное большинство, для которых углекислота считалась ненужной, а при определенной концентрации даже вредной.

На новую ступень вопрос о значении углекислоты для микроорганизмов был поднят Лебедевым [3]. По его мнению, углекислота используется в качестве источника углерода не только автотрофами, но также и всеми гетеротрофами, различие между ними определяется разными источниками энергии: автотрофы получают энергию для синтеза при окислении неорганических соединений, а гетеротрофы для этой же цели используют органические вещества.

Начиная с 20-х годов этого столетия, одна за другой стали появляться работы, показывающие, что углекислота необходима для многих гетеротрофных микроорганизмов. Авторы исследовали самые разнообразные виды бактерий как сапрофитных, так и патогенных, и установили, что при удалении углекислоты из окружающей среды замедляется или прекращается их рост. Задержку размножения при удалении углекислоты наблюдала Аристовская [1] у ряда сапрофитных бактерий. Скалон [6], работая с молочнокислыми бактериями, нашел, что процесс размножения их идет значительно медленнее, если из среды удаляется углекислота. Valley и Rettger [10] показали, что все 107 видов бактерий, исследованных ими, прекращают размножение, если удалить углекислоту полностью.

Вопрос о роли, которую играет углекислота в жизнедеятельности гетеротрофных микроорганизмов, в настоящее время не может считаться вполне разрешенным.

Мазур [4] и Аристовская [1] на ряде микроорганизмов показали возможность использования углекислоты в качестве единственного источника углерода. Эти данные являются прямым подтверждением предположения Лебедева о едином механизме питания автотрофов и гетеротрофов. Работами иностранных авторов (9, 12) установлено участие углекислоты в образовании органических кислот, входящих в цикл трикарбоновых кислот. По мнению Hes [8], углекислота принимает участие в дыхании бактерий, являясь акцептором водорода.

В качестве объекта исследования мы избрали Acetobacter suboxydans штамм № 1. Выбор именно этой культуры был обусловлен тем, что она давала хорошие показатели при глубинном способе выращивания. Опыты проводились на твердых и жидких питательных средах.

Опыты на твердых средах

На поверхность среды, разлитой в чашки Петри, наносилось определенное количество взвеси бактерий и равномерно распределялось по всей поверхности. Засеянные чашки помещались в эксикатор, на дно которого наливался 20%-ный раствор КОН. Чашки с контрольными посевами помещались на такое же время, как и опытные, в эксикатор без щелочи. Эксикаторы с засеянными чашками ставились в термостат при температуре 30°. Через определенные отрезки времени чашки вынимались из эксикаторов и оставлялись в термостате.

Первые опыты были поставлены на сусло-агаре. На поверхность среды наносилось от 5000 до 10 000 клеток. Без углекислоты чашки с посевами выдерживались двое суток. Затем они вынимались из эксикатора и оставлялись в термостате в течение 5—20 суток. Появления колоний за этот срок мы никогда не наблюдали, в то время как в контрольных посевах колонии появлялись через двое суток.

Вторая серия опытов была поставлена на среде следующего состава: дрожжевая вода (с 0,5% сухих веществ), 2% сорбита и 1,5% агара. Углекислота удалялась на более короткие промежутки времени. Результаты этих опытов представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Влияние удаления углекислоты на размножение Ac. suboxydans

№ опыта	Количество развившихся колоний		
	контроль	при удалении CO_2 на	
		5 час.	10 час.
1	1623	1030	172
2	1128	120	20
3	950	274	54
4	310	—	33
5	730	—	40

Таблица 2

Влияние удаления углекислоты на размножение Ac. suboxydans

№ опыта	Количество развившихся колоний					
	контроль	при удалении CO_2 в течение				
		4 час.	8 час.	12 час.	16 час.	24 час.
1	2150	1065	174	65	—	0
2	1578	922	75	18	4	2

Как видно из приведенных данных, исследуемая культура оказалась исключительно чувствительной к удалению углекислоты. Бактерии не только не могут размножаться в атмосфере без углекислоты, как это было установлено для многих микроорганизмов, но бо́льшая часть клеток полностью теряет способность к размножению, если их поместить в атмосферу без углекислоты даже на небольшой промежуток времени. Однако чувствительность отдельных клеток к удалению углекислоты колеблется в довольно значительных пределах. Почти половина клеток не выдерживает удаления углекислоты на 4 часа, в то время как отдельные клетки не теряют способности к размножению при удалении углекислоты даже на 24 часа.

Чем вызвано прекращение размножения бактерий: удалением ли углекислоты или каким-либо неблагоприятным изменением среды под влиянием щелочи? Для решения этого вопроса мы поставили следую-

щий опыт. Чашки со средой помещались на 24 часа в эксикатор со щелочью, затем на поверхность среды наносилось определенное количество бактерий. В этом случае число колоний, выросших на такой среде, равнялось числу колоний, выросших на свежеприготовленной среде. Следовательно, выдерживание среды в эксикаторе со щелочью не оказывает влияния на ее свойства.

При замене сорбита глюкозой или глюконатом кальция, а также при добавлении к среде с сорбитом 1 или 2 миллимолей фумаровой, янтарной или щавелевой кислот удаление углекислоты сказывается в такой же степени, как и на среде с сорбитом. Очевидно, ни одна из этих кислот не может заменить углекислоты для Ac. suboxydans.

Чтобы выяснить, свойственна ли такая высокая чувствительность к удалению углекислоты только данной культуре или присуща и другим бактериям, окисляющим сорбит в сорбозу, мы поставили аналогичные опыты по удалению углекислоты с двумя другими лабораторными культурами. Одна из этих культур была отнесена к виду Acetobacter melanogenum, другая культура была близка к Ac. suboxydans, но отличалась от него рядом культуральных признаков. Проведенные нами наблюдения показали, что удаление углекислоты оказывает на них точно такое же действие, как и на Ac. suboxydans штамм № 1. Очевидно, высокая чувствительность к удалению углекислоты свойственна всей группе бактерий, окисляющих сорбит в сорбозу.

Чтобы определить, в какой именно период развития культуры Ac. suboxydans углекислота более необходима, мы поставили следующий опыт. Две чашки с посевами помещались на 10 часов в эксикатор со щелочью, а две другие помещались на тот же срок в эксикатор без щелочи. Затем чашки с посевами менялись местами и оставлялись на 10 часов в эксикаторах, после чего все чашки вынимались из эксикаторов. Таким образом, углекислота удалялась или на первые 10 часов или на последующие 10 часов. Результаты опытов представлены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние удаления углекислоты в различные сроки после посева на размножение Ac. suboxydans

№ опыта	Количество развившихся колоний		
	контроль	при удалении CO_2 в	
		первые 10 часов	последующие 10 часов
1	310	33	115
2	730	40	360
3	950	274	550

Как видно из представленных в таблице данных, удаление углекислоты оказывает более резкое действие в первый период развития бактерий, чем в последующий.

Очевидно, при определенной степени развития колоний удаление углекислоты должно сказываться в очень малой степени. Это подтверждается следующим наблюдением: если чашки с посевами, где появились мелкие колонии, переносились в эксикатор со щелочью, то это уже не влияло на дальнейшее развитие колоний. При этом увеличение размеров колоний в атмосфере без углекислоты происходило с такой же скоростью, как и в обычных условиях.

Обнаруженные факты могут быть объяснены следующим образом. Как показали наши исследования, культура Ac. suboxydans образует некоторое количество углекислоты. Очевидно, бактерии, приступившие к размножению и получившие углекислоту извне, затем сами создают в образующейся колонии некоторую концентрацию углекислоты, которая обеспечивает возможность дальнейшего размножения.

На необходимость углекислоты именно в первый период развития бактерий указывают также Скалон [6] и Walker [11].

Опыты на жидкой среде

Опыты, поставленные на жидкой среде, давали нам возможность исследовать влияние удаления углекислоты не только на размножение, но также и на окислительную деятельность Ac. suboxydans.

Углекислота удалялась из жидкой среды путем пропускания через среду воздуха, предварительно освобожденного от углекислоты. Для удаления углекислоты воздух протягивался сначала через колонку с натронной известью, а затем через 20%-ный раствор КОН. Для более полного удаления углекислоты воздух пропускался через распылитель, сделанный из стеклянной пористой пластинки. После удаления углекислоты воздух увлажнялся при прохождении через стерильную воду и поступал в окислитель. Дно окислителя было сделано из стеклянной пористой пластинки, благодаря чему достигалось равномерное распределение воздуха в среде. Воздух протягивался через систему при помощи водоструйного насоса. Через 20 мл среды, находящейся в окислителе, проходило 40 л воздуха в час. Скорость прохождения воздуха регулировалась реометрами. Для гашения пены добавлялась капля стерильного хлопкового масла. Опыт проводился при температуре 30°. В качестве среды мы использовали дрожжевую воду (0,5% сухого остатка) с 10% сорбита.

В конце опыта определялось количество жизнеспособных бактерий методом подсчета колоний и количество сорбозы по методу Бертрана.

Результаты этой серии опытов представлены в табл. 4.

Таблица 4

Влияние удаления углекислоты на размножение и окислительную деятельность Ac. suboxydans

№ опыта	Продолжительность опыта в час.	Количество бактерий в 1 мл в млн.			Количество сорбозы в 1 мл в мг	
		начальное	после опыта			
			с CO_2	без CO_2	с CO_2	без CO_2
1	5	36	110	18	2,2	1,0
2	10	55	1240	18	25,2	3,4
3	10	46	770	13	16,0	2,1
4	24	45	3250	12	97,4	9,7
5	24	49	3450	15	99,1	16,8

Как видно из приведенных данных, при удалении углекислоты из жидкой среды бактерии не только не размножаются, но количество их уменьшается в два-три раза.

Кроме среды с 0,5%-ной дрожжевой водой, мы поставили опыты на среде со значительно меньшим количеством дрожжевой воды в связи

с указанием Аристовской [1] и Walker [11], что удаление углекислоты сказывается более резко на бактерий, культивируемых на синтетических средах. Использованная нами среда состояла из 0,05%-ной дрожжевой воды с добавлением 10% сорбита и минеральных солей в следующем количестве: $(NH_4)H_2PO_4$ — 0,03%; KH_2PO_4 — 0,02%; K_2SO_4 — 0,005%; $MgSO_4$ — 0,005% (табл. 5).

Приведенные в табл. 5 данные показали, что эффект удаления углекислоты не зависит от количества дрожжевой воды в среде. На среде с 0,5%-ной дрожжевой водой влияние удаления углекислоты сказывается даже несколько сильнее.

Таблица 5

Влияние удаления углекислоты из жидкой среды на размножение и окислительную деятельность Ac. suboxydans

№ опыта	Продолжительность опыта в час.	Количество бактерий в 1 мл в млн.			Количество сорбозы в 1 мл в мг	
		начальное	после опыта			
			с CO_2	без CO_2	с CO_2	без CO_2
1	5	39	95	37	4,8	2,8
2	10	33	370	13	18,7	5,8
3	10	31	500	16	10,3	5,8
4	24	33	1536	21	92,7	10,8
5	24	55	1220	24	98,8	14,8

Интересно, что уменьшение количества жизнеспособных бактерий почти одинаково как при удалении углекислоты на 10 часов, так и при удалении углекислоты на 24 часа. Очевидно, эти результаты обусловлены тем, что какая-то часть клеток, более устойчивая, еще продолжает размножаться, в то время как основная масса клеток гибнет.

Сравнение результатов опытов на твердых и на жидких питательных средах показывает, что удаление углекислоты более резко сказывается в опытах на твердой питательной среде, чем в опытах на жидкой питательной среде. Можно предположить, что это связано с тем, что количество клеток на 1 мл твердой среды значительно меньше количества клеток на 1 мл жидкой среды. Для подтверждения этого предположения мы поставили опыты на жидкой среде при внесении значительно меньшего количества посевного материала. В качестве среды использовалась 0,5%-ная дрожжевая вода с добавлением 10% сорбита. Результаты этих опытов представлены в табл. 6.

Таблица 6

Влияние удаления углекислоты на размножение Ac. suboxydans при малом засеве

№ опыта	Продолжительность опыта в час.	Количество бактерий в 1 мл в тыс.		
		начальное	после опыта	
			с CO_2	без CO_2
1	10	55	900	6,0
2	10	48	—	9,7
3	10	35	520	3,6
4	10	56	140	1,8
5	24	65	120 000	4,3
6	24	29	310 000	2,6
7	24	17	62 000	0,9

Как видно из данных табл. 6, при внесении в среду меньшего количества бактерий эффект удаления углекислоты проявляется более резко и зависит от продолжительности пребывания культуры без углекислоты. Очевидно, при большом количестве клеток выделяемая ими углекислота не удаляется полностью, в результате чего концентрация углекислоты в среде поддерживается на таком уровне, при котором часть клеток еще не теряет способности к размножению.

Выход сорбозы при удалении углекислоты также уменьшается (табл. 4 и 5). Но угнетение процесса образования сорбозы при удалении углекислоты значительно меньше, чем уменьшение количества бактерий. Так, количество бактерий при наличии углекислоты через 10 часов больше количества бактерий в отсутствие углекислоты в 68 раз, а количество сорбозы — в 7 раз (табл. 4, опыт 2); через 24 часа снижение количества бактерий без углекислоты достигает 266 раз, а количество сорбозы снижается только в 5 раз (табл. 4, опыт 5) и т. д. Таким образом, создается впечатление, что при удалении углекислоты окислительная деятельность бактерий повышается. Мы рассчитали, какое количество сорбозы приходится в час на одну бактерию в присутствии и отсутствие углекислоты. Количество сорбозы, образуемое одной бактерией в час в условиях размножения культуры, т. е. в присутствии углекислоты, было вычислено по формуле Buchanan [7] и составило 7×10^{-9} мг в час на одну бактерию на среде с 0,5%-ной дрожжевой водой и 13×10^{-9} мг на среде с 0,05%-ной дрожжевой водой.

При удалении углекислоты количество сорбозы, приходящееся на одну жизнеспособную бактерию в час, мы рассчитали для периода опыта между 10 и 24 часами, так как количество бактерий, действующее в этот период, оставалось приблизительно на одном уровне. Расчеты показали, что при удалении углекислоты количество сорбозы, приходящееся на одну жизнеспособную бактерию, составило в среднем 51×10^{-9} мг в час на среде с 0,5%-ной дрожжевой водой и 26×10^{-9} мг в час на среде с 0,05%-ной дрожжевой водой. Следовательно, при удалении углекислоты скорость образования сорбозы жизнеспособными бактериями значительно увеличивается.

Однако возможно, что при удалении углекислоты окислительная деятельность сохраняется у всех бактерий, первоначально внесенных в среду, в то время как способность к размножению у многих из них теряется. Но даже если количество бактерий, обладающих окислительной активностью, мы примем равным первоначальному, то и тогда окислительная деятельность бактерий при удалении углекислоты будет выше окислительной деятельности с углекислотой на среде с 0,5%-ной дрожжевой водой и примерно равна на среде с 0,05%-ной дрожжевой водой. Следовательно, и в этом случае мы не наблюдаем торможения окисления при удалении углекислоты, хотя способность к размножению у значительного количества бактерий теряется.

Справедливость сделанного нами заключения о повышении окислительной деятельности при удалении углекислоты подтверждается опытом с так называемой «покоящейся культурой».

Односуточная культура бактерий, выращенная на среде с 10% сорбита и с 0,05%-ной дрожжевой водой (500 мл), центрифугировалась, полученный осадок дважды промывался физиологическим раствором (0,85% NaCl) и переносился в физиологический раствор с 10% сорбита. Полученная взвесь бактерий разделялась на две части по 20 мл и помещалась в окислители. Одна часть аэрировалась воздухом с углекислотой, а другая — воздухом без углекислоты. Результаты опытов приведены в табл. 7. В опыте 1 определялось количество бактерий методом посева на чашки. Исходное количество бактерий составило 5400 млн. в 1 мл, через 130 минут при аэрации воздухом с углекислотой в 1 мл находилось 5800 млн. бактерий, а без углекислоты 6400 млн.

в 1 мл; через 14 часов с углекислотой — 3700 млн., а без углекислоты — 3400 млн. в 1 мл. Таким образом, в этом случае удаление углекислоты не сказывается на количестве жизнеспособных бактерий, но процесс окисления сорбита в сорбозу при удалении углекислоты идет значительно интенсивнее, как это видно из данных приведенных в табл. 7.

Таблица 7

Влияние удаления углекислоты на процесс окисления сорбита суспензией Ac. suboxydans

№ опыта	Время взятия пробы (от начала опыта)	Количество сорбозы в 1 мл в мг	
		с CO_2	без CO_2
1	Через 60 мин.	18,1	28,0
	„ 130 „	36,3	53,5
	„ 14 час.	65,4	70,4
2	Через 30 мин.	0	0
	„ 70 „	10,9	16,0
	„ 110 „	22,1	32,8
	„ 20 час.	72,6	86,5

Все вышеприведенные факты показывают, что углекислота не является необходимой для функционирования окислительной системы Ac. suboxydans, так как при удалении углекислоты мы наблюдаем не торможение, а скорее интенсификацию окислительной деятельности этих бактерий. Какова причина того, что при удалении углекислоты ускоряется процесс окисления сорбита в сорбозу в настоящее время сказать трудно. Можно только предположить, что повышение окислительной деятельности является реакцией организма на те неблагоприятные условия, которые создаются при удалении углекислоты.

Наши данные, следовательно, не подтверждают положения [8] о том, что углекислота необходима гетеротрофным организмам как участник процесса дыхания.

Мы полагаем, что исключительную чувствительность бактерий, окисляющих сорбит в сорбозу, к удалению углекислоты нельзя объяснить и тем, что углекислота является для них источником углерода. Трудно предположить, чтобы бактерии гибли оттого, что их лишают питательного вещества на четыре часа. Не отрицая возможности ассимиляции углекислоты этими бактериями, можно высказать предположение, что углекислота является не только источником углерода, но играет в их жизнедеятельности еще какую-то особую роль, для выяснения которой требуются специальные биохимические исследования.

Выводы

1. Бактерии, окисляющие сорбит в сорбозу, оказались исключительно чувствительными к удалению углекислоты. При удалении углекислоты даже на несколько часов количество жизнеспособных бактерий уменьшается в несколько раз.

2. Потребность в углекислоте больше в первые часы развития культуры, чем в последующие.

3. Удаление углекислоты более резко сказывается при малом количестве бактерий в среде.

4. Прекращение размножения бактерий при удалении углекислоты не сопровождается торможением их окислительной деятельности.

Ленинградский
государственный университет
им. А. А. Жданова

Получено 7.XII.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аристовская Т. В. Использование углекислоты и возможность редукции карбоксила гетеротрофами. Микробиология, X, вып. 6, 1941.
2. Аристовская Т. В. Значение углекислоты в жизнедеятельности гетеротрофных микроорганизмов. Успехи соврем. биол. XVII, вып. 1, 1944.
3. Лебедев А. Ф. Об ассимиляции углерода сапрофитами. Известия Донского ун-та, кн. 1, 1921.
4. Мазур Б. Л. К биологии туберкулезной палочки. Казанский мед. журн., № 4, 1926.
5. Селибер Г. Л. Углекислота как фактор жизнедеятельности гетеротрофных организмов и тканей. Природа, № 5—6, 1942.
6. Скалон И. С. Отношение молочнокислых бактерий к углекислоте. ДАН СССР, VIII, № 6, 1947.
7. Buchanan R. a. Fulmer E. Physiology and biochemistry of bacteria, v. III, Baltimore, 1930.
8. Hes I. Function of carbon dioxide in the metabolism of heterotrophic cells. Nature, No. 3571, 647, 1938.
9. Samuel I., Ajl a. Werkman C. Replacement of CO_2 in heterotrophic metabolism. Archiv. Biochem., **19**, 438, 1948.
10. Valley G. a. Rettger L. The influence of carbondioxide on bacteria. J. Bact., **14**, 101, 1927.
11. Walker H. Carbondioxide as a factor effecting lag in bacterial growth. Science, **76**, No. 1982, 1932.
12. Wood H. a. Werkman C. The utilisation of CO_2 in the dissimilation of glycerol by the propionic acid bacteria. Biochem. J., 30, 48, 1936.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДОЗИРОВОК АЗОТА ДЛЯ ПИТАНИЯ ДРОЖЖЕЙ

С. А. Коновалов

Дрожжи, употребляемые в производстве, в результате длительного их культивирования приобрели характерные для них признаки, а именно: глубину выбраживания сусла, образование аромата, стойкость к высоким концентрациям сахара и спирта, к повышенной кислотности и т. д. Для сохранения нужных качеств в последующих генерациях необходимо культивирование дрожжей проводить в оптимальных условиях в отношении состава питательных веществ. Азотистое питание для дрожжей имеет при этом важное значение.

Чтобы поддерживать оптимальное содержание азота в естественных средах, приготовляемых из картофеля, зерна или патоки, следует проводить предварительное его определение. Эта необходимость вытекает из того факта, что указанные среды, применяемые на спиртовых и дрожжевых заводах для размножения дрожжей, содержат недостаточное количество ассимилируемого азота, поэтому принято в такие среды вносить дополнительно азотистые вещества.

Содержание усвояемого дрожжами азота в средах иногда определяется биологическим способом, сводящимся к культивированию дрожжей на сильно разбавленных средах с продуванием воздуха [4]. Однако этот метод требует для своего осуществления значительного времени.

Наряду с содержанием ассимилируемого азота в среде необходимо предположительно знать ожидаемый выход дрожжей и дозировку азота, потребную на определенное количество дрожжевых клеток. Зная число клеток в определенном объеме, можно произвести расчет азота, нужного для питания дрожжей. В практике спиртового производства часто в 1 мл зрелых дрожжей содержится 100—130 млн. клеток, следовательно, в 100 мл содержится 10—13 млрд. дрожжевых клеток. Поэтому расчет азота удобнее вести на 10 млрд. клеток. Эти 10 млрд. можно условно принять за единицу для расчета на дрожжевые клетки.

Задача настоящей работы заключалась в том, чтобы при размножении дрожжей как на синтетических, так и на естественных средах, содержащих различное количество ассимилируемого азота, установить:

1) способ определения содержащегося в питательных средах азота, ассимилируемого дрожжами;

2) метод учета дозировок азота, необходимого для питания дрожжей и рассчитываемого на единицу дрожжевых клеток.

Экспериментальная часть

Для сбраживания крахмалистых заторов применялись дрожжи Saccharomyces cerevisiae XII раса; в опытах с паточным суслом — раса Я. Чистая культура дрожжей выращивалась в стерильных условиях на разбавленном (5—6° по сахарометру сухих веществ) пивном сусле или на паточном сусле (раса Я), приготовленном как без дополнительного азотистого питания, так и с добавлением 0,02% азота сернокислого аммония. Кроме того, размножение дрожжей расы Я осуществлялось как с аэрированием, так и без него. В паточное сусло дополнительно вносились суперфосфат и сернокислый магний.

Размножение дрожжей проводилось на паточном сусле, содержание сухих веществ в котором варьировало от 1,0 до 8,0° по сахарометру, т. е. патока, поступавшая с сахарных заводов, разбавлялась в 10—40—80 раз. Кроме того, количество сахара в слабом сусле всюду выравнивалось путем внесения определенной навески сахарозы до содержания его в сусле, концентрация которого соответствовала 8° сухих веществ. Содержание же азота, наоборот, везде было различное: минимальное количество его составляло 31,0 мг общего и 5,9 мг аминного, максимальное — 265 и 48 мг в 100 мл среды.

После брожения определялось содержание в бражке общего азота (по Кьельдалю) и аминного азота (по ван-Слайку) и количество дрожжевых клеток.

Определение ассимилируемого азота

В естественных средах, приготовляемых из картофеля, зерна или свеклосахарной патоки, содержатся азотистые вещества в виде белка, пептидов, аминокислот и аммиачных солей.

Наиболее легко и полно дрожжевой клеткой потребляется азот аминокислот, амидоаминокислот и аммиачных солей. Это подтверждается при условии, когда указанные формы азота находятся в питательной среде в качестве единственного источника азотистого питания. При содержании в среде азотистых веществ в смеси и в различных соотношениях потребление азота протекает иначе, чем в том случае, если они находятся в отдельности.

Экспериментально было установлено, что при размножении дрожжей на естественных средах (картофельных, паточных, на средах с пептоном) потребление азота осуществляется в основном за счет аминной его формы. Это особенно выявляется при размножении дрожжей на слабом паточном сусле, содержащем 1,0—2,0—4,0° (по сахарометру) сухих веществ. Здесь количество усвоенного азота в основном соответствует содержанию аминного азота исходного сусла. Например, исходное 2,0 и 4,0° сусло содержит аминного азота 11,9 и 23,8 мг в 100 мл, а усвоено 11,8 и 21,9 мг, т. е. около 99 и 92% в пересчете на аминный азот начального сусла (табл. 1). На сусле, разбавленном до содержания в нем 1,0° сухих веществ, дрожжами было усвоено азота больше

Таблица 1

Потребление азота дрожжами, культивируемыми на паточном сусле с различным содержанием азота (0,03—0,28%)

Концентрация сухих веществ сусла (в градусах сахарометра)	Азота до брожения в 100 мл в мг		Усвоено общего азота		
	общего	аминного	в мг	в %	в % к аминному азоту
1,0	30,9	5,9	8,09	26,18	137,1
2,0	50,8	9,4	9,0	17,7	96,4
2,0	63,5	11,9	12,9	20,3	108,4
2,0	61,9	11,9	11,8	19,0	98,8
2,0	61,9	11,9	11,76	18,0	98,8
4,0	123,9	23,8	21,9	17,7	91,9
4,0	123,9	23,8	20,2	16,3	84,9
6,0	109,5	35,7	26,2	13,8	73,5
6,0	190,5	35,7	22,0	11,9	61,7
6,0	185,9	35,7	15,7	7,2	47,3
8,0	247,8	47,6	20,5	8,3	43,2
8,0	254,0	47,6	22,7	9,0	47,8

(на 2,19 мг, или 37%), чем содержалось аминного азота вначале. Следовательно, здесь наряду с азотом аминной формы, усваивался азот других форм. При размножении же дрожжей на более концентрированном паточном сусле, соответствующей 6,0—8,0° сухих веществ, азота было усвоено меньше, чем содержалось аминного азота в начальном сусле.

При сбраживании картофельного сусла, употребляемого в практике спиртового производства, также удалось заметить потребление азота за счет аминной его формы. Так, за первые семь часов брожения количество общего азота, усвоенного дрожжами, вполне соответствовало количеству аминного азота, которое убыло за это время из сбраживаемого сусла. За указанное время было усвоено аминного азота 19,3 и

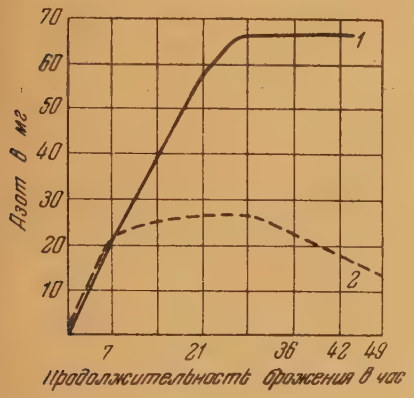


Рис. 1. Потребление азота при различных стадиях брожения картофельного сусла

1 — потребление общего азота; *2* — потребление аминного азота

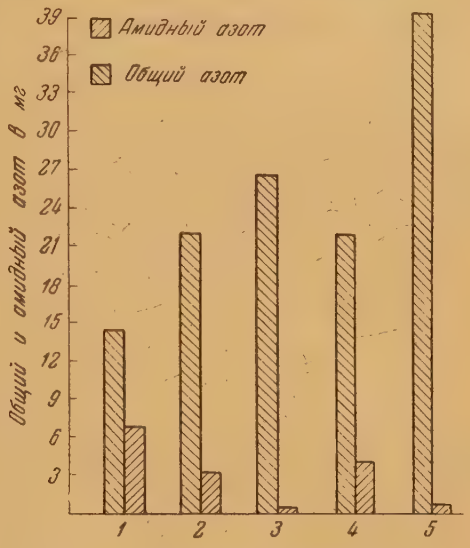


Рис. 2. Потребление амидного азота дрожжами, при их культивировании на различных питательных средах (мг в 100 мл)

1 — аспарагин; *2* — аспарагин + гликоколл + сернокислый аммоний; *3* — пентон; *4* — паточное сусло 10° Балг. размножение с аэрированием; *5* — ячменное сусло 15 Балг.

23,1 мг в 100 мл, а прирост общего азота дрожжей составил 22,3 и 22,9 мг, т. е. азот других форм, кроме аминной, за это время не потреблялся (рис. 1).

В последующий период брожения в обоих вариантах опыта соотношение между общим и аминным азотом, усвоенным дрожжами, меняется, так как ассимиляция аминного азота маскируется другими процессами, связанными с азотистым обменом дрожжей. В это время брожение сопровождается энергичным выделением из клетки во внешнюю среду аминного азота [3], а при брожении крахмалистых сред происходит кроме того, возрастание аминного азота за счет расщепления сложных азотистых соединений [2].

Потребление аминного азота при сбраживании картофельных сред было установлено и при условии, когда сусло и бражка перед определением в них аминного азота освобождались от сложных азотистых соединений осаждением их основным уксуснокислым свинцом и таннином. При этом было найдено, что аминного азота было усвоено 124,1 мг из 1 л сбраживаемой среды, а прирост общего азота дрожжей составил при этом 113,6 мг. Следовательно, потребление и здесь шло исключительно за счет азота аминокислот. Только при сбраживании картофельного сусла, содержащего в четыре раза меньше азотистых веществ, потреблялся, наряду с аминоазотом, азот других форм.

Потребление азота аминокислот имело место и при размножении дрожжей на средах с пептоном.

В то же время необходимо отметить, что при различных условиях размножения дрожжей амидный азот в присутствии аминоазота потребляется в очень небольших количествах (рис. 2); практически этой величиной можно пренебречь. При размножении дрожжей с аэрированием сред потребление амидного азота, как нами ранее уже отмечалось [2], возрастает.

Таким образом, усвояемым азотом в естественных средах является аминоазот.

Таблица 2

Потребление азота дрожжами

№ опыта	Источник азота	Введено азота на 100 мл в мг	Количество клеток в 100 мл в млн.	Усвоено азота в мг		Азота в сухих дрожжах в %
				в 100 мл	10 млрд клеток	
1	Сернокислый аммоний	105,0	3130	6,7	21	9,53
		10,5	2910	6,2	21	9,05
		4,2	2000	2,4	12	4,83
		1,1	1200	1,0	08	4,41
		0,0	695	0,0	0	2,90
2	Аспарагин	81,0	3830	10,6	28	7,99
		16,0	4225	10,6	25	7,72
		9,0	3250	7,6	24	5,78
		5,0	3170	3,6	11	3,69
		3,0	2020	2,6	13	3,48
		1,3	1870	0,8	04	1,44
		0,7	1012	0,5	5	0,65
		0	732	0,0	0	1,35
3	Дрожжевая вода	42	5150	8,5	16	8,06
		32	5200	6,7	13	6,91
		21	4650	5,6	12	6,17
		10	3700	3,6	10	4,52
		5	2225	1,9	9	3,24
		3	1975	1,9	9	4,83
		1	730	0,6	9	2,57
		0	225	0	0	2,00

Дозировки азота, необходимые для питания размножающихся дрожжей в процессе спиртового брожения

Размножение дрожжей на синтетических средах. Опыты с различными источниками и дозировками азотистого питания проводились на синтетической среде, содержащей 10% сахара и необходимые соли (сернокислый магний и фосфорнокислые соли). Источниками азотистого питания служили сернокислый аммоний, аспарагин или дрожжевая вода.

Указанные источники азота применялись в различных концентрациях.

На основании полученных данных, сведенных в табл. 2, можно придти к выводу, что количество азота, усвоенного дрожжами, дает возможность судить о дозировке азота, которая необходима для дрожжей. При оптимальном (0,01—0,02%) или повышенном (0,08—0,10%) содержа-

нии в среде азота каждые 10 млрд. клеток усваивают его в количестве 21,0—28,0 мг, по мере снижения содержания азота в среде (0,005—0,001%) уменьшается и его усвоение дрожжевой клеткой. При размножении дрожжей в среде, содержащей 4—5 мг азота в 100 мг, т. е. ниже оптимальной его концентрации, потребление азота, рассчитанное на 10 млрд. клеток, составляло лишь 12,0—11,0 мг, т. е. оно было в два раза меньше, чем количество, усвоенное за тот же период дрожжами, культивированными в среде, содержащей 10, 16, 81 или 105 мг азота в 100 мл (опыт 1 и 2). Дрожжи, полученные при оптимальном или повышенном содержании азотистых веществ в среде, были богаты азотом; количество азота в пересчете на сухой вес составляло 7,72—9,53%. Это дает основание считать, что дрожжи развивались в среде, содержащей достаточное количество азота, ассимилируемого дрожжевой клеткой.

При размножении дрожжей в среде с наибольшим содержанием дрожжевой воды потребление азота составляло 8,5—6,7 мг (опыт 3) из 100 мл, т. е. было усвоено примерно такое же количество, как и в опытах с оптимальным или повышенным содержанием азота сернокислого аммония (6,7—6,2 мг) или аспарагина (10,6—7,6 мг). Однако в опыте с дрожжевой водой количество усвоенного азота, рассчитанного на 10 млрд. клеток, составляло только 16,0—13,0 мг, вместо 21,0—28,0 мг, усвоенных в первых двух опытах.

Размножение дрожжей на паточном сусле. Размножение дрожжей проводилось на сусле с различным содержанием азота.

Полученные данные позволяют установить, что сусло в 6—8° сухих веществ, обычно применяемое в таких концентрациях в практике спиртового производства для размножения дрожжей, содержит 0,18—0,25% общего и 0,03—0,05% аминного азота. При этом размножение дрожжей, учитываемое по количеству клеток, несмотря на различную концентрацию азотистых веществ применяемой патоки, протекает во всех случаях примерно с одинаковой скоростью. Так, при размножении дрожжей на патоке с содержанием 6° сухих веществ без дополнительного азота в 1 мл бражки содержалось 140 млн., а на сусле с добавлением 0,02%, азота сернокислого аммония содержалось 145 млн; при применении 8° сусла содержание дрожжевых клеток равнялось соответственно 156 и 141 млн. Таким образом, полученные результаты говорят о наличии в сусле (6—8°) достаточного количества азота, необходимого для питания дрожжей; следовательно, оно может применяться без дополнительного азотистого питания, вносимого обычно в виде сернокислого аммония [1].

Кроме того, было установлено, что при довольно различных условиях культивирования дрожжей их потребность в азоте определяется в 20,0—24,0 мг на 10 млрд. клеток или 20—34 мг на 100 мл среды (рис. 3). Получаемые при этом дрожжи содержат около 9% азота от общего количества сухих веществ.

Только дальнейшее снижение содержания азота паточного сусла требует внесения дополнительного азота для интенсивного размножения дрожжевых клеток. Это было с убедительностью показано настоящими опытами, в которых одновременно размножение дрожжей проводилось на паточном сусле, содержащем 4—2—1° сухих веществ. Разбавление патоки (в 20—80 раз) до указанных концентраций снижает в ней содержание общего азота до 0,03 — 0,06% и аминного азота до 0,006—0,012%. Этого количества азота уже недостаточно для полного удовлетворения потребности дрожжевой клетки в азоте. Потребление азота в этих опытах (1—2°) составляло 8,1—9,0—13,0 мг, а при аэрировании — 15,0 мг в 100 мл среды или при расчете на 10 млрд. клеток оно соответствовало 9,0—12,0—13,0 мг при развитии без аэрирования и при аэрировании — 16,0 мг. Следовательно, в сильно разбавленную па-

току (1,0—2,0°) необходимо дополнительно вносить азот. Об этом можно судить не только по количеству азота, усвоенному дрожжами, но также и по степени размножения дрожжей и сбраживанию сахара. Например, при размножении дрожжей на 1,0° паточном сусле без дополнительного азота содержалось в 1 мл бражки 89 млн. клеток, а в сусле с добавлением 0,02% азота сернокислого аммония содержалось 112 млн. Соответственно сказанному прирост дрожжей при размножении на 2° сусле составлял 105 и 135 млн. клеток.

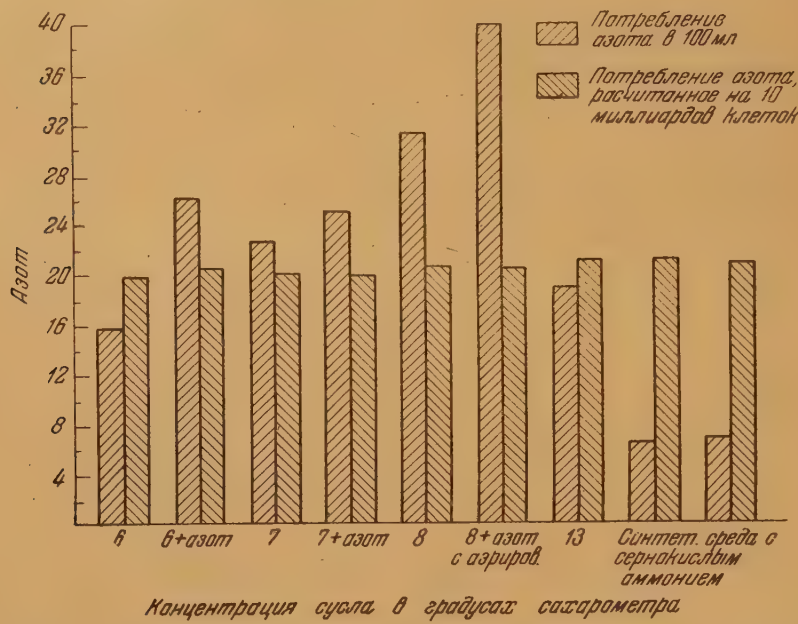


Рис. 3. Дозировки азота, необходимые для питания дрожжей при различных условиях их размножения

Следовательно, при размножении дрожжей на средах, содержащих достаточное количество ассимилируемого азота, потребление его определяется 20,0 мг на 10 млрд. клеток. В практике спиртового производства такое количество клеток очень часто содержится в 100 мл бражки. При наличии в среде достаточного количества ассимилируемого азота эта величина потребления является постоянной (рис. 3).

Отклонение от указанных норм в потреблении азота отмечается лишь при следующих обстоятельствах: 1) при более низкой, чем оптимальная, концентрации азота в среде и 2) при весьма интенсивном размножении дрожжей, что имеет место при культивировании их на дрожжевой воде. В этом случае усваивалось, как выше отмечалось, 13,0—16,0 мг азота 10 млрд. клеток.

Таким образом, при сбраживании сред, приготовляемых из свекло-сахарной патоки или картофеля, потребность дрожжей в азоте удовлетворяется в основном за счет азота аминокислот. Следовательно, по содержанию в начальной среде аминного азота можно примерно судить о наличии ассимилируемого азота, определение которого необходимо для практических целей. Кроме того, предполагая выход дрожжей в сбраживаемой среде, можно предварительно определить питательную ценность предназначаемых для брожения сред. Это позволяет рассчитать дозировку дополнительного азота в случае ее необходимости и тем самым устранить тот пробел, который существует до настоящего времени в практике производства.

Выводы

1. Дрожжи при культивировании их на естественных средах, усваивают в основном азот аминокислот; амидный азот потребляется в весьма незначительных количествах.

2. По содержанию аминоазота в среде, предназначаемой для брожения, можно судить о примерном содержании ассимилируемого азота и тем самым предварительно определять достоинство сбраживаемого субстрата.

3. Паточное сусло, содержащее в своем составе около 0,03% аминного азота, может применяться для размножения дрожжей без дополнительного азотистого питания. При этом потребность дрожжей в азоте при размножении их без продувания воздуха составляет около 20—26 мг, а при размножении с аэрированием — 28—34 мг в 100 мл.

4. При оптимальных условиях культивирования дрожжей каждые 10 млрд. клеток усваивают 20—24 мг азота.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт спиртовой промышленности
Москва

Получено 18.V.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коновалов С. А. Сбраживание патоки без дополнительного азотистого питания для дрожжей. Спиртоводочная промышленность, № 10, 1940.
2. Коновалов С. А. Азотистое питание дрожжей. Диссертация, МГУ, 1947.
3. Мазилкин И. А. О выделении азота из дрожжевой клетки при спиртовом брожении. Диссертация, 1939.
4. Плевако Е. А., Гивартовский Р. В. Технология дрожжевого производства. Пищепромиздат, 1949.

О РАЗВИТИИ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ ЗА СЧЕТ НАТУРАЛЬНОГО КАУЧУКА

В. Н. Шапошников, И. Л. Работнова, Г. А. Ярмола и *В. М. Кузнецова*

В предыдущем исследовании [2] нами установлено, что натуральный каучук может быть использован как субстрат для развития бактерий. Между тем известно, что во влажных условиях каучук и каучуковые изделия могут покрываться плесенью. Интересно было выяснить, в какой мере натуральный каучук может быть использован плесневыми грибами.

Выделение плесневых грибов, развивающихся на каучуке

Выделение грибов производилось с кусков натурального каучука типа «копченый шит». Образцы со следами плесени помещались на неделю в эксикатор над водой при комнатной температуре. Во влажных условиях они быстро покрывались сплошным слоем плесени.

От каждого образца стерильными ножницами отрезали мелкие кусочки и помещали в пробирки с 10 мл стерильной воды. Встряхивали 10 минут. Полученную суспензию разводили водой в 10, 100 и 1000 раз. Из полученных разведений делали высевы в чашки Петри с сусловым агаром. Через 1—2 дня выращивания при 30° появились колонии грибов — зеленые и желтые. Из этих колоний были получены чистые культуры грибов в пробирках с сусловым агаром. Всего получено 23 чистые культуры грибов.

Все эти грибы далее были посеяны на каучук для того, чтобы выяснить, какие из них могут на нем развиваться, и отбросить грибы, попавшие случайно, неспособные использовать каучук. Для этого каучук нарезался кусочками 0,5 × 4 см. Каждый кусочек помещался в пробирку и на ⅓ заливался солевым раствором следующего состава на водопроводной воде: NH_4NO_3 — 0,25%; Na_2HPO_4 — 0,1%; KH_2PO_4 — 0,05%; $MgSO_4$ — 0,05%; $MnCl_2$ — 0,02%; $ZnSO_4$ и $FeSO_4$ — следы; pH = 6,5—7,0. В таком виде пробирки с каучуком стерилизовались в автоклаве при 120° 20 минут.

При посеве на каучук, приготовленный таким образом, грибы имели все необходимые питательные вещества, причем единственным источником углерода являлся каучук.

Все выделенные нами чистые культуры грибов дали хороший рост на каучуке. Рост появился на 3—4-й день при выдерживании в термостате при 30°. Каучук, выступающий из жидкости, покрывался налетом грибных спор. На каучуке, погруженном в жидкость, никакого роста нет. На поверхности жидкости также роста нет, что свидетельствует о том, что при стерилизации каучука в раствор не переходят питательные вещества. Среди 23 чистых культур встречалось много одинаковых. Было отобрано 16 культур, включающих все имеющиеся виды. Эти культуры были определены по определителю Курсанова. 5 черных плесеней идентифицированы как Aspergillus niger; 3 желтые — как Asp. ochraceus; 8 зеленых плесеней распределяются следующим образом: 2 — Asp. fumigatus, 3 — Penicillium chloro-leucon, 1 — Asp. oryzae, 1 — Penicillium chrisogenum и 1 — Penicillium notatum.

Все виды, выделенные нами, принадлежат к числу обычных широко распространенных плесеней.

Специфичность грибов, развивающихся на каучуке

Чтобы выяснить, являются ли выделенные нами грибы специфичными для каучука разновидностями или на каучуке вообще могут развиваться обычные плесневые грибы, мы произвели посев на каучук вышеописанным образом 16 различных видов и рас обычных плесневых грибов, имеющихся в коллекции кафедры микробиологии Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова. Все плесневые грибы выросли на каучуке (Asp. ochraceus, Asp. niger, Rhizopus, Penicillum arenarium, Citromyces glaber, Asp. fumigatus, Mucor, Penicillium sp., Trichoderma).

Таким образом, можно заключить, что плесневение каучука могут вызывать не какие-то специализированные формы грибов, а любые, широко распространенные плесени.

Количественный учет использования каучука грибами

Далее были поставлены опыты по количественному учету разрушения каучука грибами, выделенными с заплесневевшего каучука.

Для создания большей поверхности соприкосновения гриба с каучуком были получены тонкие пленки каучука путем испарения бензольного раствора. Пленки имели вид сморщенных комочков, тонких, с относительно большой поверхностью. Вес каждой пленки перед опытом был точно определен и колебался в пределах 0,8—1,5 г у разных кусочков, поверхность — около 150 см² (считая верхнюю и нижнюю стороны). Каждая пленка помещалась в колбочку на 100 мл, в которую вносилось по 5 мл вышеупомянутой минеральной среды (pH = 7). После стерилизации в автоклаве произведен посев спорами грибов с суслового агара. Было посеяно четыре разных гриба, и две колбочки оставлены стерильными в качестве контроля. Колбочки помещались в наклоненном положении таким образом, чтобы жидкость касалась лишь небольшой части пленки, а большая часть пленки оставалась бы на воздухе, так как рост грибов идет только на каучуке, не погруженном в жидкость. В таком виде колбочки выдерживались при комнатной температуре 125 дней (летний период). По мере подсыхания раствора солей добавлялась стерильная дестиллированная вода. По окончании опыта грибы были тщательно смыты с каучука и пленки высушены до постоянного веса при 45°.

Результаты приведены в таблице на стр. 282.

Как показывают данные таблицы, в результате развития грибов не происходило сколько-нибудь заметной убыли каучука. Потери каучука не превышают 1—2%. Внешний вид каучука также не изменился. Это свидетельствует о том, что грибы, исследованные нами, развиваются за счет примесей органических веществ, всегда имеющихся в натуральном каучуке, и не затрагивают самого углеводорода. В каучуке «копченый шит» всегда имеется до 2,4% белка, 0,3% сахара, 3,1% смолы [1].

Для проверки этого вывода были поставлены опыты по количественному учету разрушения грибами очищенного каучука. Очистка производилась следующим образом.

Каучук нарезался как только возможно мелко (кусочки около 1 мм³) и кипятился в дестиллированной воде 10 минут для удаления экстрактивных веществ. Затем помещался на одни сутки в 10% KOH для удаления белков. После этого каучук промывался, просушивался и

Таблица

Изменение веса каучука в результате развития плесневых грибов

Организм	Вес в г		Изменение веса	
	начальный	конечный	в г	в %
Asp. niger	0,8116	0,8080	—0,0036	—0,45
	0,9656	0,9700	+0,0044	+0,55
	1,4090	1,3964	—0,0126	—0,90
Asp. ochraceus	1,3654	1,3400	—0,0254	—1,86
	1,5412	1,5250	—0,0162	—1,05
	1,1150	1,1036	—0,0114	—1,02
Penicillium chloro-leucon	1,5650	1,5510	—0,0140	—0,90
	1,2584	1,2436	—0,0148	—1,18
Asp. fumigatus	1,2758	1,2764	+0,0006	+0,05
	1,0150	0,9980	—0,0170	—1,67
Стерильный контроль	6,4964	1,5056	+0,0092	+0,62
	2,2030	2,2110	+0,0080	+0,36

заливался ацетоном на одни сутки для удаления смол. Для полноты удаления смол каучук в ацетоне нагревался на водяной бане в течение часа. Это повторялось два-три раза. Ацетон сливался и каучук высушивался. После этого каучук растворялся в бензоле и употреблялся для получения пленок. Пленки из очищенного каучука были заражены теми же грибами, что и в приведенном выше опыте с неочищенным каучуком. За два месяца выдерживания в термостате при 30° ни один гриб не дал роста. Даже слабых следов развития грибов на очищенном каучуке не удалось обнаружить.

Эти данные подтверждают заключение, что плесневые грибы не затрагивают углеводорода и развиваются только за счет примесей органических веществ — белкового и углеводного характера, всегда имеющихся в натуральном каучуке.

Выводы

1. Плесневение каучука могут вызывать самые обычные широко распространенные плесневые грибы.
2. Развитие грибов на натуральном каучуке происходит за счет имеющихся в нем примесей органических веществ.
3. Углеводорода каучука исследованные плесени не затрагивают.

Биолого-почвенный институт
Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова

Получено 17. I. 1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Догадкин В. А., Химия и физика каучука, 1947.
2. Шапошников В. Н., Работнова И. Л., Ярмола Г. А., Кузнецова В. М. и Мозохина-Поршнякова Н. Н., О развитии бактерий за счет натурального каучука., Микробиология, XXI, 144, 1952.

НОВЫЕ ВИДЫ ГАЛОФИЛЬНЫХ ЦЕЛЛЮЛОЗОРАЗРУШАЮЩИХ БАКТЕРИЙ

З. Ф. Теплякова

В настоящее время известны галофильные бактерии, относящиеся к различным физиологическим группам. Однако по отношению к целлюлозоразрушающим бактериям таких данных нет. В этой статье описаны два новых вида галофильных целлюлозоразрушающих почвенных вибрионов, выделенных из солонцов и солончаков различных районов Казахской ССР.

Для первоначального изолирования бактерий в качестве основных сред нами использовалась минеральная среда следующего состава: воды — 1000 мл; K_2HPO_4 — 1,0 г; $CaCl_2$ — 0,1 г; $MgSO_4\,7\,H_2O$ — 0,3 г; $FeCl_3$ — 0,01 г; $NaNO_3$ — 2,5 г; агар-агар 10,0 г с различным содержанием NaCl от 1—12%.

На пластину застывшего агара в чашках Петри накладывался кружок стерильной фильтровальной бумаги. Изучаемый образец почвы тщательно перемешивался и просеивался через профламбированное 1 мм сито. Для посева в каждую чашку Петри бралась навеска в 0,1 г, увлажнялась стерильной водой и раскладывалась на пластинки с фильтровальной бумагой в количестве 50 комочков. Засеянные таким способом чашки выдерживались в термостате при температуре 28°. Через 4 дня вокруг комочков появлялись различно окрашенные пятна: коричневые, соломенно-желтые или бесцветные. Микроскопическое исследование окрашенных пятен показало, что в измененных волокнах целлюлозы содержатся, кроме целлюлозоразрушающих вибрионов, различные сопутствующие микроорганизмы бактерии, простейшие, гифы грибов. Число сопутствующих организмов уменьшалось от центра пятен к периферии. В периферии пятна преобладали исключительно целлюлозоразрушающие бактерии с небольшим количеством сопутствующих симбионтов.

Учитывая это обстоятельство, мы производили получение обогащенных культур путем отсевов из периферической части пятен в пробирки с жидкой минерально-азотной средой и полосками фильтровальной бумаги или на свежие пластинки с этой же агаризованной средой.

Путем ряда таких пересевов были получены обогащенные культуры, содержащие один или два спутника.

Две формы из полученных вибрионов оказались новыми, еще не описанными видами и отличались от уже известных вибрионов тем, что одна из этих культур являлась облигатно-галофильной, а другая — факультативно-галофильной.

Облигатно-галофильная культура вибрионов была выделена из мокрого, карбонатного супесчаного солончака под чием, взятого в Сюгатинской долине Алма-Атинской области. При развитии на фильтровальной бумаге культура образовывала пятна светлокоричневого цвета, могла развиваться на средах с клетчаткой только при наличии в среде не менее 2,5% NaCl.

Факультативно-галофильная культура вибрионов была выделена из высыхающего ила соленого озера Туз-Куль Нарынкольского района Алма-Атинской области. На фильтровальной бумаге она образовывала

пятна соломенно-желтого цвета, лучше развивалась на средах с 2,5% NaCl и очень слабо без него.

Выделение чистых культур

Уже при первых попытках изолировать чистые культуры этих бактерий из полученных обогащенных культур мы столкнулись с большими трудностями. Все обычно применяемые методы изолирования чистых культур не приводили к желаемой цели. Однако чистые культуры были в конце концов получены. Были испытаны следующие методы, не приведшие к положительным результатам.

1. Посевы на целлюлозный агар с 2,5% NaCl не дали результатов. Во всех случаях, кроме целлюлозных бактерий, вокруг волокон развивались их спутники. Матовая, непросвечивающая, шероховатая поверхность среды мешала видеть мелкие бесцветные колонии вибрионов.

2. Метод сложенных пластинок. На твердую минерально-азотную среду с 2,5% NaCl наносилось несколько стерильных бумажных кружков, положенных друг на друга. Предполагалось, что клетки Cellvibrio быстрее пройдут через слой фильтров, чем бактерии-спутники, не обладающие способностью разрушать бумагу. Для этого верхний из фильтров заражался кусочком сброженной бумаги, взятым из периферической части пятна. Через один-два дня при появлении роста из нижнего листка бумаги производился отсев на свежие пластинки с такими же сложенными листками фильтровальной бумаги. Этим путем также не удалось освободиться от спутников.

3. Воздействие пенициллином. В пробирки с минеральной средой и полосками фильтровальной бумаги вносили 2000, 200 и 20 единиц пенициллина. В эти пробирки производился посев кусочками сброженной бумаги. При появлении роста делался отсев в новые пробирки с таким же содержанием пенициллина. Однако и этим методом освободиться от спутников не удалось.

Чистые культуры целлюлозоразрушающих вибрионов были получены методом так называемых «отрицательных колоний» или «пустых мест». Этот метод применялся в следующей модификации. В качестве питательной среды была использована агаризованная мясо-пептонная среда с 2,5% NaCl. На этой среде могли быстро развиваться все спутники, имеющиеся в культуре вибрионов. Перед посевами среда разливалась в 15—20 чашках Петри и предварительно подсушивалась.

Маленьким кусочком сброженного волокна фильтровальной бумаги производился посев штрихами в ряд чашек. В первых чашках колоний спутников вырастало очень много, в последующих их было меньше, а в последних чашках они были единичными. Через двое суток при температуре 28° колонии спутников уже хорошо развивались. Для дальнейшей работы отбирались только чашки с редкорасположенными колониями бактерий-спутников.

Для производства отсева из таких чашек вырезались кусочки агара, не содержащие колоний бактерий-спутников. Оказалось, что лучше всего брать материал для отсева в местах, где штрихи загибались. В этих местах поверхность среды имела несколько шероховатый вид. Платиновой иглой вырезывался тонкий кусочек агара и переносился в минеральную среду с NaCl и погруженными полосками фильтровальной бумаги. Таких отсевов каждой культуры производилось в 60—70 пробирок. Отсеянные пробирки инкубировались при 28°. Если отсеянные кусочки агара содержали бактерий-спутников, то развитие в таких пробирках начиналось относительно скоро. Развитие же чистых культур целлюлозоразрушающего вибриона начиналось только на 8—15-й день. Из от-

сеянных пробирок приблизительно $^2/_3$ оставались стерильными, в остальных развивались целлюлозоразрушающие вибрионы вместе с сопутствующими им бактериями и только в единичных пробирках получались абсолютно чистые культуры целлюлозоразрушающих вибрионов.

Описанным методом «отрицательных колоний» или «пустых мест» были получены две чистые культуры целлюлозоразрушающих вибрионов.

Ниже приводится описание этих культур, которые оказались новыми видами целлюлозоразрушающих вибрионов.

Cellvibrio Winogradskii sp. n.

1. Морфология. На минеральной среде с 2,5% NaCl и фильтровальной бумагой в молодой культуре организм имеет вид слегка изогнутой или прямой с закругленными концами палочки 2,6—3 $\mu \times$ 0,2—0,3 μ. Организм грамотрицателен; обладает слабой подвижностью; имеет длинный жгутик. На старых агаризованных средах с клетчаткой размеры клеток уменьшаются до 1,3—2,5 $\mu \times$ 0,2—0,3 μ. На агаризованной картофельно-сахарной среде и МПА с 2,5% NaCl вибрионы быстро деформируются, принимают форму коккобацилл или дугообразно искривляются; концы палочек приобретают заостренную форму; вибрионы плохо окрашиваются эритрозионом и метиленовой синью. Колонии вибрионов остаются хорошо заметными больше месяца, однако клетки их быстро аутолизируются.

2. Физиология. Основная особенность этого целлюлозоразрушающего вибриона, отличающая его от всех известных видов этих микробов — его строгая галофильность. На питательных средах без NaCl этот организм совершенно не развивается. .

В посевах на фильтровальной бумаге с агаризованной минеральной средой, к которой добавлено 2,5% NaCl, через 36—72 часа при температуре 28° на бумаге возникает ярко окрашенное коричневое пятно с неровными диффузными краями и с незначительным ослизнением поверхности. Коричнево-окрашенная зона бумаги быстро расширяется, в то же время центральная часть окрашенной зоны постепенно обесцвечивается и просветляется, причем бумага приобретает студнеобразную консистенцию.

В пробирках с жидкой солевой средой того же состава через 36—48 часов инкубирования на бумаге кверху от уровня жидкости появляется пятно коричневого цвета с неровными краями. Через 72 часа бумага несколько обесцвечивается, просветляется, принимает студенообразную консистенцию, постепенно продавливается и высыхает от нарушения капиллярного притока питательных веществ.

Однако разрыва бумаги при этом не происходит.

При посеве штрихами на МПА с 2,5% NaCl через 48—50 часов развиваются бесцветные, круглые, матовые колонии, около 0,2 мм в поперечнике с гладкими и ровными несколько выступающими краями и более темным центром. Постепенно размер колоний увеличивается и доходит до 0,5 мм. Через несколько суток выпуклость краев колоний сглаживается и последние становятся менее рельефными.

На МПБ с 2,5% NaCl появляется незначительная муть без образования пристеночного кольца и пленки. Мясо-пептонная желатина не разжижается, молоко не изменяется.

Важная особенность чистых культур этого целлюлозоразрушающего вибриона заключается в том, что при продолжительном культивировании на средах с фильтровальной бумагой в качестве единственного источника органического вещества жизнеспособность организма постепенно ослабевает. Это выражается в том, что развитие вибриона становится все более замедленным, инкубационный период удлиняется, а интенсивность разрушения клетчатки заметно ослабевает. В конце концов вибрион

полностью теряет жизнеспособность и перестает развиваться. Однако в культурах, в которых вместе с целлюлозоразрушающими вибрионами присутствуют также его спутники, все перечисленные явления не наблюдаются. Положительное влияние бактерий-симбионтов может быть заменено введением в питательную среду дрожжевой воды или кукурузного отвара. В этих условиях интенсивность роста ослабленных культур восстанавливается и физиологическая деградация прекращается. Повидимому, в этом случае витамины, содержащиеся в дрожжевой воде и кукурузном отваре, компенсируют выделения бактерий-симбионтов.

3. Отношение к NaCl. Оптимальное содержание в питательной среде соответствует 2,5%. Однако описываемый целлюлозоразрушающий вибрион способен развиваться при концентрациях NaCl значительно превышающих этот оптимум. Предельное содержание NaCl, при котором еще наблюдалось очень слабое развитие, составляло 9%. При продолжительном культивировании в средах с 9% NaCl наблюдается адаптация культуры, благодаря которой последняя начинает нормально развиваться при 9% NaCl и слабо при 10% этой соли.

4. Азотное питание. Из источников азота лучше всего усваивается азотнокислый калий или натрий. Слабо усваивается аспарагин, казеин, пептон. Совершенно не усваиваются гликоколл, мочевина и сернокислый аммоний.

5. Углеродное питание. В отношении углеродного питания описываемый облигатно-галофильный вибрион является высоко-специализированным организмом. Он хорошо усваивает только углерод целлюлозы, которая может быть представлена в виде фильтровальной бумаги или целлофана. Кроме целлюлозы, очень слабо усваивается глюкоза. В жидкой минеральной среде с 2,5% NaCl и глюкозой в качестве единственного органического вещества наблюдается слабое развитие в виде незначительного помутнения. На такой же агаризованной среде развитие культуры вообще не происходит. Совершенно не усваивается сахароза, лактоза, арабиноза, раффиноза, маннит, мальтоза, глицерин. Из солей органических кислот не усваиваются: лимоннокислый кальций и глюконовокислый кальций а также и этиловый спирт.

Узкая специализация описываемого вибриона в отношении углеродсодержащих энергетических веществ свидетельствует о принадлежности этого организма к специализированным почвенным агентам разрушения целлюлозы.

6. Отношение к кислотности среды. Описываемый вибрион имеет оптимум pH около 7,5. Развитие происходит только в слабощелочных и щелочных средах. При pH = 6,1 вибрион не развивается. Наиболее высокое значение pH, при котором наблюдалось развитие, около 10,0.

7. Отношение к нагреванию. Вибрион хорошо выдерживает прогревание в течение 15 минут при температуре 43—45°. Прогревание при температуре 48° приводит к замедлению развития. При прогревании до 50° наблюдается развитие не во всех пробирках, а после прогревания при температуре 52—60° развития не наблюдается.

8. Действие на клетчатку. Разрушение фильтровальной бумаги описываемым галофильным вибрионом начинается с внедрения бактерий в толщу бумаги, преимущественно в местах, лучше снабжаемых питательными веществами. Концы волокон, а потом и все волокно обволакивается сплошной массой бактерий. Благодаря литическому действию последних на разрушаемых волокнах появляются поперечные трещины и разрывы, в конце концов волокно распадается на отдельные членики. Последние в свою очередь расщепляются в продольном направлении. К концу процесса волокна оказываются полностью растворенными и превращенными в студнеобразную, просвечивающую массу. В периферических частях бумага успевает только разрых-

литься и вскоре же высыхает от нарушения капиллярного притока питательных веществ.

Разрушение целлофановых пластинок протекает несколько иначе. Из-за плотности целлофана бактерии не внедряются в толщу последнего. Разрушение начинается с процессов растворения, благодаря которым целлофановая пластинка теряет блеск и приобретает тусклый серый оттенок. Едва видимые поверхностные «изъязвления» целлофана постепенно увеличиваются. Разрушение целлофановых пластинок происходит медленнее, чем бумаги.

В честь Сергея Николаевича Виноградского, впервые открывшего и описавшего эту группу бактерий, описанный нами вид назван Cellvibrio Winogradskii.

Cellvibrio halophilus sp. n.

1. Морфология. На минеральной среде с 2,5% NaCl и фильтровальной бумагой организм имеет вид палочки прямой или сильно изогнутой с закругленными концами. Слабо подвижен и несколько бо́льших размеров, чем Cellvibrio Winogradskii. В молодой культуре вибрион 3—3,2 $\mu \times 0{,}3$—0,4 μ. В старых культурах с фильтровальной бумагой размеры клеток несколько уменьшаются, до 1,5—2.5 $\mu \times 0{,}3$—0,2 μ. На пластинках картофельно-сахарной среды и МПА с 2,5% NaCl форма колонии сохраняется больше месяца однако вибрионы быстро деформируются, искривляются, уменьшаются в размерах и постепенно автолизируются. К окраске по Граму относятся отрицательно. Эритрозином и метиленовой синью окрашиваются плохо. На препаратах часто наблюдаются клетки-тени с плохо выраженными контурами.

2. Физиологические особенности. На минеральной среде с 2,5% NaCl и фильтровальной бумагой через 24—36 часов при 28° в жидкости появляется слабая муть, становящаяся заметной при встряхивании пробирки, а полоска бумаги окрашивается в соломенно-желтый цвет. Окрашенный участок имеет диффузные края, незаметно переходящие в неизмененную бумагу. Через 48 часов на уровне жидкости бумажная полоска набухает, разрыхляется постепенно продавливается и разрывается.

Описываемый вибрион способен развиваться и на обычных питательных средах, к которым не добавлен хлористый натрий, но значительно лучше развитие его происходит при добавлении к среде 2,5% NaCl. В минеральной среде без соли наблюдается замедленное развитие культуры, бумажная полоска разрыхляется, продавливается, но не всегда разрывается, оставаясь совершенно бесцветной.

При посевах культуры на агаровые пластинки с мясо-пептонной средой с 2,5% NaCl и без соли различий не наблюдается. Через 48 часов в малое увеличение микроскопа видны круглые, матовые, кратерообразной формы колонии с выступающими гладкими краями и более темным продавленным центром. Размер колоний от 0,2 до 0,6 мм в поперечнике. При старении выпуклость колоний постепенно сглаживается.

На МПБ через 36—48 часов появляется слабое помутнение без образования пленки и пристеночного кольца слизи.

Мясо пептонная желатина не разжижается; молоко не изменяется.

При продолжительных пересевах чистых культур на синтетические среды интенсивность развития вибриона сильно понижается и в конце концов рост их полностью прекращается. Добавление к среде 1—2%-го кукурузного отвара или дрожжевой воды восстанавливает нормальное развитие культуры.

3. Отношение к NaCl. Оптимальное развитие при 2,5% NaCl. На минерально-азотной среде без повышенного содержания NaCl наблюдается только замедленное развитие вибриона без окрашивания бумаги.

Разрыва бумаги или не происходит, или он возникает только через 9—10 дней после посева. Слабый рост наблюдается в среде при 7,5—8% NaCl. При 9% хлористого натрия рост отсутствует.

4. Азотное питание. Лучше всего усваивается азотнокислый натрий или калий. Несколько слабее — аспарагин и пептон. Плохо усваивается казеин и сернокислый аммоний. Совершенно не усваивается мочевина и гликоколл.

5. Углеродное питание. В отношении углеродного питания описываемый вибрион является организмом мало специализированным. Он слабо усваивает маннит, глюкозу, мальтозу, раффинозу, сахарозу, этиловый спирт, лимоннокислый и глюконовокислый кальций. Не усваиваются лактозы, арабиноза, глицерин. На жидких средах с различными углеводами развитие незначительное. На твердых средах, чаще вокруг места посева, появляется серовато-голубоватый слизистый ободок. На глюкозе и мальтозе наблюдалось развитие по всей поверхности агара отдельных мелких, круглых серовато-голубоватых колоний.

6. Отношение к pH среды. Хорошее развитие наблюдалось на средах при pH = 8,2—9,8. Более замедленное — при pH = 7,6—7,2. Развитие совершенно отсутствует в средах с pH = 6,0 и ниже. Оптимум роста культуры при pH = 8—8,2.

7. Действие на клетчатку. Характер распада целлюлозных волокон аналогичен распаду, вызываемому облигатно-галофильным Cellvibrio Winogradskii, но степень разрушения иная. Развитие культуры на фильтровальной бумаге происходит очень быстро. Вибрионы сначала проникают в поры бумаги, быстро размножаясь, окружают волокна, отчего последние под действием бактерий постепенно распадаются. Полного растворения волокон и образования слизи не происходит.

На целлофановых пленках развитие вибрионов замедленное. Вначале целлофан теряет блеск, приобретает тусклый серый оттенок и разрывается.

Для сравнения интенсивности разрушения целлофана описанными выше галофильными и негалофильными культурами вибрионов в пробирки с минерально-азотной средой вносились целлофановые полоски высушенные до постоянного веса и взвешенные на аналитических весах.

Посев производился суспензией бактерий, наносимой на поверхность целлофановых полосок. Пробирки с посевами выдерживались при 28° в течение 35 дней, после чего целлофановые полоски осторожно отмывались и снова высушивались.

Результаты опыта приведены в таблице.

Сравнительная интенсивность разрушения целлофана чистыми культурами галофильных и негалофильных вибрионов

Культура	Вес до опыта в мг	Вес после опыта в мг	Убыль в мг
Галофильные вибрионы			
Cellvibrio Winogradskii	0,0911	0,0615	29,6
„ „	0,0676	0,0435	24,1
Cellvibrio halophilus	0,0876	0,0673	20,3
„ „	0,0755	0,0508	24,7
Негалофильные вибрионы			
Обогащенная культура № 27	0,0689	0,0570	11,9
То же	0,0790	0,0607	18,3
Обогащенная культура № 3	0,0734	0,0568	16,6
То же	0,0752	0,0674	7,8

Как видно из данных таблицы, описанные нами галофильные вибрионы более интенсивно разрушают целлюлозу, чем негалофильные.

Описанный необлигатно-галофильный целлюлозоразрушающий вибрион представляет новый вид этих бактерий, который мы называем Cellvirbio halophilus.

Выводы

1. Из солончака и из высыхающего ила соленого озера выделены два новых вида целлюлозоразрушающих галофильных вибрионов.

2. Первый — облигатно-галофильный вибрион, окрашивает бумагу в коричневый цвет; на питательных средах без NaCl не развивается. Оптимальное содержание NaCl в питательной среде — 2,5%. Оптимальное pH развития около 7,5. Организм узко специализирован в отношении углеводного питания, усваивает только целлюлозу и очень слабо глюкозу. Другие углеводы и соли органических кислот не использует. Лучший источник азота — нитраты. В честь первого исследователя целлюлозоразрушающих почвенных вибрионов этот новый вид назван Cellvirbio Winogradskii.

3. Второй — факультативно-галофильный вибрион, окрашивает бумагу в соломенно-желтый цвет. Развивается и при отсутствии NaCl, но лучше при содержании в среде до 2,5% NaCl. Оптимальное pH развития около 8,0. Организм в отношении углеводного питания не специализирован и использует различные углеводы и соли органических кислот. Лучший источник азота — нитраты. Назван Cellvibrio halophilus.

4. Галофильные целлюлозоразрушающие вибрионы более интенсивно разрушают целлюлозу, чем негалофильные.

Институт почвоведения
АН Казахской ССР
Алма-Ата

Получено 20.I.1951 г

ФОРМИРОВАНИЕ ПРОЧНОЙ СТРУКТУРЫ ПОЧВЫ ЗА СЧЕТ РАЗЛАГАЮЩЕГОСЯ КЛЕВЕРА

М. Р. Биркель

Вильямс [1] показал, что прочная мелкокомковатая структура почвы создается травосмесью, состоящей из многолетнего бобового и многолетнего злака (клевер-тимофеевка). Оба компонента травосмеси формируют структурные агрегаты, прочность же эти агрегаты приобретают под действием солей кальция, образующихся при разложении послеуборочных остатков клевера. Рудаков [2] еще в 1946 г. указал на возможность образования прочных структурных агрегатов при прижизненном взаимодействии клевера и протопектиназных бактерий и последующем образовании активного перегноя (уроно-протеидных комплексов) в результате взаимодействия галактуроновой кислоты, образующейся при разложении пектиновых веществ межклетников клевера протопектиназными бактериями с микробным протеином.

Дальнейшими работами Рудакова и Биркель [3, 4, 5] было доказано образование галактуроновой кислоты под воздействием протопектиназных бактерий на корневую систему клевера и значительное повышение образования прочноструктурных агрегатов при обработке семян клевера протопектиназными бактериями.

Совершенно естественно было ожидать, что аналогичные процессы, если они характерны для живого развивающегося клевера, должны иметь место и при разложении послеуборочных остатков клевера. Мы поставили своей задачей исследовать это экспериментально.

Образование галактуроновой кислоты при воздействии протопектиназных бактерий на мертвые остатки клевера

Чтобы проследить образование галактуроновой кислоты из мертвых остатков клевера, нужно было провести опыт с внесением протопектиназных бактерий к стерильным корневым остаткам клевера. Единственный путь для этого — вырастить клевер из стерилизованных семян в условиях полной стерильности; в этих же условиях вызвать его отмирание, после чего внести протопектиназных бактерий.

Методика выращивания стерильных растений описана в работе Рудакова и Биркель [3]. При проведении опытов клевер выращивался в стерильном кварцевом песке с питательной смесью Прянишникова. Когда клевер достиг примерно 12 см высоты [через месяц], сосуды были перенесены в темную камеру и, таким образом, лишены света. Началось увядание, а затем гибель растений.

После проверки сосудов на стерильность они были инфицированы культурами протопектиназных бактерий по следующей схеме:

1—2 Контроль
3—4 Bac. polymyxa 8523
5—6 Bac. polymyxa 7070
7—8 Bac. polymyxa ЧН
9—10 Erwinia carotovora
11—12 Bact. coli
13—14 Bac. mycoides

Все культуры Bac. polymyxa и Erwinia carotovora активно образуют протопектиназу. Культуры Bact. coli и Bac. mycoides протопектиназы не образуют. Инфицированные сосуды были помещены в термостат при температуре 26°. Через месяц в песке всех сосудов произведено определение галактуроновой кислоты (по Толленсу). Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Название культур	Среднее количество галактуроновой кислоты в мг на 100 г песка
Контроль	0,0264
Bac. polymyxa 8523	0,0616
„ „ 7070	0,5764
„ „ rH	0,5544
Erw. carotovora 495	0,1310
Bact. coli	0,0704
Bac. mycoides	0,0070

Таблица ясно показывает, что протопектиназные бактерии освобождают галактуроновую кислоту из корневых остатков клевера. Нужно отметить, что из корневых остатков клевера освобождается значительно больше галактуроновой кислоты, чем при действии протопектиназных бактерий на развивающийся живой клевер.

Формирование прочноструктурных почвенных агрегатов из галактуроновой кислоты клевера и микробного протеина

Для проведения этого опыта мы поместили измельченные кусочки корней клевера (0,5 см) в колбочки, залили водой и после стерилизации заразили их протопектиназными бактериями (смесь культур Bac. polymyxa). Через 10 дней проба на галактуроновую кислоту (орцин + соляная кислота при нагревании) дала положительный результат.

Половина колбочек была подвергнута вторичной стерилизации и затем инфицирована или почвой, или чистой культурой клубеньковых бактерий для клевера. Наблюдения показали, что развитие и почвенных, и клубеньковых бактерий протекало очень слабо. Все же через 6 суток колбочки были перенесены на сутки в термостат при 50—51°, чтобы вызвать автолиз развившихся бактерий. Содержимое приготовленной таким образом массы было отжато, и полученной жидкостью смочена бесструктурная почва Юрьев-Польского опытного пункта Московского отделения Института сельскохозяйственной микробиологии. Из влажной почвы приготовлены гранулы (2,0—5,0 мм), подсушены и подвергнуты агрегатному анализу (по Саввинову).

Одновременно агрегатному анализу были подвергнуты гранулы из той же почвы, но смоченные водой. Результаты этого анализа оказались незначительными. В обоих случаях и при изготовлении гранул при помощи воды и при помощи Bac. polymyxa из обработанных вышеописанным способом корней клевера, водопрочность гранул оказалась равной нулю. Объяснение этому мы видим только в том, что масса микробного протеина была очень мала. Заслуживает внимания также то обстоятельство, что качественная реакция на уроновые кислоты в пробе после суточного автолиза была примерно той же интенсивности, как после 10-суточного развития протопектиназных бактерий. Это служит указанием на

то, что галактуроновая кислота во взаимодействие с протеином не была вовлечена.

Поэтому второй опыт с клевером, обработанным протопектиназными бактериями (оставленная половина колбочек), был поставлен иначе. В эти колбочки было сразу добавлено некоторое количество бактериальной массы (колонии, смытые с чашек Петри). Колбочки снова помещены на одни сутки при 50° для автолиза, и затем на отжатой жидкости были приготовлены гранулы из Юрьев-Польской почвы.

Отметим, что качественная проба на уроновые кислоты, произведенная после автолиза, дала в этом случае отрицательные результаты. Результаты агрегатного анализа приведены в табл. 2.

Таблица 2

Варианты опытов	% водопрочных агрегатов
Контроль (почва и вода) .	0
Почва + клеверная жидкость после развития протопектиназных бактерий	0
Почва + клеверная жидкость после дополнительного автолиза с бактериальной массой .	90

Результаты этого опыта показывают, что за счет взаимодействия уроновых кислот, образующихся при обработке корневых остатков клевера протопектиназными бактериями, и микробного протеина образуются уроново-протеидные комплексы, придающие прочность почвенным агрегатам, т. е. образуется активный перегной.

Выводы

1. Из мертвых остатков клевера при обработке их протопектиназными бактериями образуется галактуроновая кислота.

2. При взаимодействии галактуроновой кислоты, образующейся при действии протопектиназных бактерий на корневые остатки клевера и микробного протеина, образуется активный перегной, придающий прочность почвенным агрегатам.

Московское отделение
Всесоюзного научно-исследовательского института
Всесоюзного института

Получено 5.III.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вильямс В. Р. Почвоведение, 1946.
2. Рудаков К. И. Образование гумуса в процессе развития растений. Тр. Юбилейной сессии, посв. 100-летию со дня рожд. В. В. Докучаева, 236, 1949.
3. Рудаков К. И. и Биркель М. Р. Развивающееся растение, микроорганизмы и прочная структура почвы. Микробиология, XVIII, вып. 6, 1949.
4. Рудаков К. И. и Биркель М. Р. Развивающееся растение и образование гумуса. Микробиология, XIX, вып. 6, 1950.
5. Рудаков К. И. и Биркель М. Р. Образование микроорганизмами прочной структуры почвы. Доклады ВАСХНИЛ, № 1, 1951.

ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА АНТИБИОТИКОВ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ КАРТОФЕЛЬНОЙ ПАЛОЧКОЙ

И. Е. Минкевич и *А. Н. Климов*

В 1925 г. Минкевичем и Цукерманом [2] было обнаружено, что картофельная палочка, Bac. mesentericus vulgatus, выделяет в культуральную жидкость какое-то вещество, избирательно подавляющее рост дифтерийной бактерии.

С тех пор изучению антибактериального действия картофельной палочки было уделено значительное внимание, которое особенно возросло после успешного получения из различных микробов ряда антибиотиков.

В 1939 г. Хетче и Вебер (Hettche u. Weber [8]) выделили из культуральной жидкости картофельной палочки препарат, обладающий бактерицидным действием по отношению к дифтерийной палочке и золотистому стафилококку.

Этот препарат был получен извлечением из подкисленного бульона эфиром, омылением экстрагированных липоидов и последующим выделением жирных кислот. Бульон после такого извлечения терял бактерицидные свойства.

Максимальные разведения, в которых действовал их препарат, составляли:

1 : 7500 через 2, 5, 8 и 24 часа действия на дифтерийную палочку;
1 : 1000 через то же время действия на золотистого стафилококка.

Содержащиеся в выделенном препарате жирные кислоты были идентифицированы как олеиновая и изовалериановая.

Однако эти исследования не привели к решению вопроса о природе антибиотических свойств картофельной палочки, и в настоящее время среди ряда ученых господствует взгляд, что картофельная палочка должна выделять еще какие-то другие активные вещества.

Так, Фредерик с сотр. (Fredericq, Thibault et Gratia [5]) считает, что картофельная палочка выделяет в культуральную жидкость ряд веществ, уже получивших название мезентеринов и относящихся к различным химическим соединениям.

Грациа и Тибо (Gratia et Thibault [7]) на основании изучения диффузионных свойств действующего начала культуральной жидкости считают, что здесь должно содержаться несколько веществ, резко отличающихся по своим физико-химическим свойствам.

Минкевич и Сироко [1] показали, что выделенные ими в 1943—1946 гг. из почвы Самарканда и Ленинграда штаммы картофельной палочки обладают антагонистическими свойствами к дифтерийной палочке и золотистому стафилококку и что при выращивании картофельной палочки на жидких питательных средах в культуральную жидкость выделяется только незначительная часть активного вещества, а главная масса его остается в самих бактериальных клетках.

Острогорская [3] обнаружила, что активно действующее на дифтерийную палочку вещество, содержащееся в самой микробной клетке, может быть извлечено 96° этиловым спиртом.

Используя смывы семидневной культуры картофельной палочки с агара и подкисляя их до pH = 6,8, Острогорская переводила высшие

жирные кислоты в петролейный эфир. При этом оказалось, что смывы, содержащие обезжиренные микробные тела, оставались попрежнему активными по отношению к дифтерийной палочке. Это заставило Острогорскую признать, что, помимо высших жирных кислот, картофельная палочка выделяет еще какие-то активные вещества.

Позднее нами было замечено, что полученные по способу Острогорской спиртовые экстракты из микробных тел обладали антибиотическим действием по отношению к дифтерийной палочке в разведениях 1 : 10—20 тысяч (в переводе на сухой остаток), что значительно превышало активность препарата, выделенного Хетче и Вебером.

Цель настоящей работы поэтому и заключалась в том, чтобы определить, какие именно высокоактивные вещества содержатся непосредственно в самой микробной клетке.

Картофельная палочка выращивалась на МПА в вакцинных матрацах, что дало возможность получать значительное количество бактериальных клеток. Всего для выполнения работы потребовался материал с тысячи матрацев. Семидневная культура картофельной палочки смывалась с агара дестиллированной водой. Выделение и подбор антагонистических штаммов Bac. mesentericus, накопление микробной массы на агаровых матрацах, бактериологический контроль извлекаемых из культур фракций проводились на кафедре микробиологии, а все этапы выделения и химического анализа препаратов — на кафедре биохимии. Таким образом, вся работа выполнялась комплексно двумя названными кафедрами Военно-медицинской академии.

Первоначальная работа проводилась со смывом культуры, обработанными по способу Острогорской, но впоследствии использовались отцентрифугированные и отмытые несколько раз микробные тела.

После высушивания при 37° микробные тела (в количестве от 20 до 40 г) сильно взбалтывались с большим объемом (до 1 л) 96° спирта и для лучшей экстракции их оставляли стоять в течение нескольких дней. Спирт при этом приобретал светложелтую окраску. Уже такие спиртовые экстракты (равно, как и полученные по способу Острогорской) задерживали рост дифтерийной палочки в концентрации 50—100 γ в 1 мл (в переводе на сухой остаток).

Дальнейшая обработка заключалась в концентрировании спиртовых экстрактов, что достигалось путем отгонки спирта в условиях вакуума при 37°. Оставалась темнокоричневая маслянистая жидкость в количестве 5—10 мл, которая в переводе на сухой остаток обладала примерно такой же активностью по отношению к дифтерийной палочке, как и исходный спиртовый экстракт.

Содержание азота в таких концентрированных экстрактах колебалось от 6 до 11% на сухой остаток, причем основная масса его приходилась на неорганический азот (NH_4Cl).

Предварительное определение кислотного числа (392) и иодного числа (20,9) показало, что, если даже допустить наличие олеиновой кислоты в смеси (кислотное число 198,63 и иодное число 89,87), то, помимо этой кислоты, в смеси должны были содержаться еще какие-то кислоты с меньшим числом углеродных атомов или другие вещества кислотного характера.

Для разделения жирных кислот из смеси и их определения обычно применяется либо метод вакуум-дестилляции, либо метод фракционированного осаждения нерастворимых солей жирных кислот. В нашей работе ввиду очень небольшого количества исходного вещества эти методы оказались непригодными, и мы остановились на успешно разрабатываемых в настоящее время методах хроматографического разделения жирных кислот. Предварительно исходное вещество подвергалось следующей обработке: маслянистая жидкость полностью растворялась в 20—30 мл 1 *N* NaOH. После этого раствор подкислялся 5% H_2SO_4

до pH = 2 и производилась экстракция жирных кислот серным эфиром. Эфирный экстракт взбалтывался три раза с небольшими порциями 1 *N* NaOH, эфирная фаза, оказавшаяся биологически неактивной, отбрасывалась, а водные фазы, собранные вместе, опять подкислялись до pH = 2, и снова производилась экстракция жирных кислот, но на этот раз *n*-гексаном. Переведенные в гексан вещества уже не содержали в своем составе азота.

Водные фазы собирались вместе и после нейтрализации едким натром проверялись на биологическую активность. Оказалось, что они обладали отчетливым антибиотическим действием против дифтерийной палочки и не оказывали никакого влияния на рост золотистого стафилококка.

Мы предположили, что причина бактерицидного действия водных растворов после извлечения из них высших жирных кислот может обуславливаться наличием в них низших жирных кислот, которые ввиду их хорошей растворимости в воде не перешли полностью из водной фазы в органическую.

Для выделения низших жирных кислот водные растворы, подкисленные до pH = 2, обрабатывались сернокислым магнием (12 г $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ на 100 мл воды) и подвергались дестилляции с паром по методу Фридемана (Friedeman [6]).

Дальнейшая обработка заключалась в переводе низших жирных кислот из водного раствора в органический растворитель, что достигалось комбинированным применением методов Петерсона и Джонсона (Peterson a. Johnson [9]) и Элсдена (Elsden [4]). Для этого дестиллят, содержащий низшие жирные кислоты, концентрировался до 10 мл, смешивался с 300 мг кизельгура и высушивался при 110°. После добавления нескольких капель воды получалась аморфная масса, которая обрабатывалась 3 г безводного порошкообразного сернокислого натра. Получившаяся сухая смесь экстрагировалась шесть раз небольшими объемами (по 4 мл) 10% бутанола в хлороформе.

Собранные вместе экстракты использовались для хроматографического определения жирных кислот.

Хроматографическое определение низших жирных кислот

В 1948 г. Петерсон и Джонсон [9] предложили метод определения низших жирных кислот на основании различного их распределения между двумя жидкими фазами. В качестве неподвижной фазы они использовали воду, в качестве подвижной — бензол или смесь хлороформа с бутанолом.

Адсорбентом неподвижной фазы служил силикагель Celite 545. Ввиду отсутствия указанного силикагеля мы применили в своей работе кизельгур (инфузорную землю), оказавшуюся вполне пригодной для этой цели. Хроматографические трубки, использованные в нашей работе, имели высоту 30 см и внутренний диаметр 1,5 см. Дно трубки имело несколько отверстий и переходило в конус, заканчивающийся краном. На 2 см выше дна трубка имела стеклянный шлиф, при помощи которого она могла быть разделена на две части.

Адсорбционная смесь кизельгур — вода — бензол готовилась следующим образом: в ступке к 10 г кизельгура прибавлялось 6 мл воды, смесь тщательно растиралась до получения гомогенной пудры. Вслед за этим содержимое в ступке заливалось свободным от тиофена бензолом в количестве, достаточном, чтобы покрыть всю смесь полностью.

Приготовленная адсорбционная смесь при помощи стеклянной палочки с поршневидным расширением на конце проталкивалась в хроматографическую трубку, дно которой покрывалось тонким слоем стек-

лянной ваты, смоченной бензолом. Механическое проталкивание должно сопровождаться вращательными движениями для предотвращения образования вертикальных каналов в содержимом трубки. Высота слоя адсорбционной смеси должна быть точно 8 см. При заполнении трубки кран все время остается открытым. После испарения бензола над слоем адсорбционной смеси кран закрывается и небольшой объем пробы для анализа осторожно вливается пипеткой в хроматографическую трубку. С этого момента начинается проявление трубки с применением соответствующего проявляющего растворителя. К каждым 2 мл вытекающего из трубки раствора прибавляется 4 мл 96° этилового спирта, капля спиртового раствора фенолрота и производится определение жирных кислот титрованием 0,1 *N* $Ba(OH)_2$.

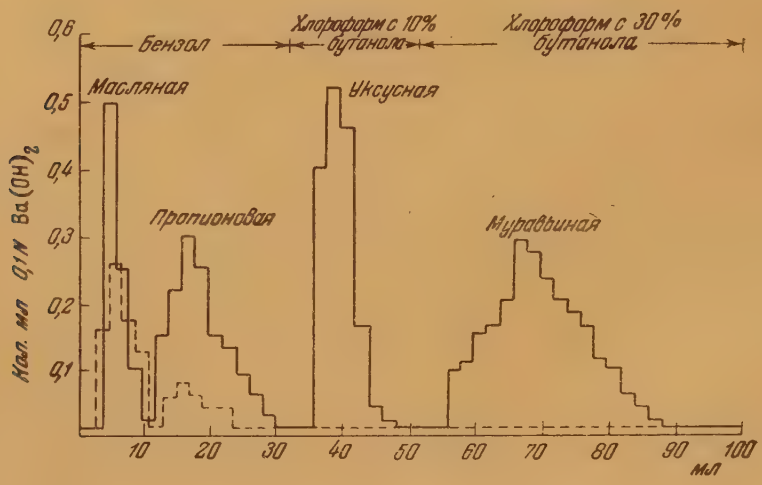


Рис. 1. Разделение смеси масляной, пропионовой, уксусной и муравьиной кислот (по 10 мг каждая) с использованием различных растворителей. Пунктирной линией изображена хроматограмма кислот, выделенных из микробных клеток

На рис. 1 показана типичная хроматограмма раздельного определения искусственно составленной смеси жирных кислот (сплошная линия) и кислот, выделенных из микробных клеток (пунктирная линия).

Как видно из рисунка, в водной фазе, оставшейся после извлечения высших жирных кислот, удалось определить наличие заметных количеств масляной и пропионовой кислот.

Оставалось необходимым проверить, могут ли эти кислоты обуславливать бактерицидное действие на дифтерийную палочку. Результаты такой проверки показали, что действительно как масляная, так и пропионовая кислоты обладают резко выраженным бактерицидным действием в отношении дифтерийной палочки и значительно слабее действуют на золотистого стафилококка (табл. 1).

Чтобы исключить возможность адсорбции в хроматографической трубке каких-либо других активных веществ, содержимое трубки после ее проявления было высушено и обработано небольшим количеством спирта. После фильтрования спиртовый экстракт был сконцентрирован и испытан на бактерицидность. При этом оказалось, что никакого влияния на рост дифтерийной палочки и золотистого стафилококка такой спиртовый экстракт не оказывал. Стало быть, бактерицидное действие водных растворов было обусловлено наличием в них низших жирных кислот — масляной и пропионовой.

Таблица 1

Бактерицидное действие чистой масляной и пропионовой кислот на дифтерийную палочку и золотистого стафилококка

Название кислоты	На какой микроб действует	Разведение											
		1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640	1 : 1 280	1 : 2 560	1 : 5 120	1 : 10 240	1 : 20 480	1 : 40 960
Пропионовая	На дифтер. палочку	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
	На золот. стафилококка	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
Масляная	На дифтер. палочку	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	На золот. стафилококка	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+

Примечание. Знаком — обозначено полное подавление роста микробов. Определение порога бактерицидного действия препаратов производилось в бульоне методом серийных разведений. В пробирки с различными разведениями вещества добавлялись одинаковые количества культуры Corynebact. diphtheriae или золотистого стафилококка. Пробирки помещались в термостат при 37° на 12 и 24 часов; после чего просматривались и контролировались на рост высевами: на свернутую сыворотку Леффлера — для палочки дифтерии и на обычный МПБ — для стафилококка

Хроматографическое определение высших жирных кислот

Для разделения высших жирных кислот, переведенных в *n*-гексан, мы испытали два метода хроматографического их определения, предложенные Рамзеем и Паттерсоном для жирных кислот, содержащих от 5 до 10 углеродных атомов (Ramsey a. Patterson [10] и от 11 до 19 [11]).

В первом из указанных методов в качестве неподвижной фазы применяется метанол, а во втором — смесь фурфурилового спирта или фурфурола и 2-аминопиридина. В качестве адсорбента неподвижных фаз в обоих методах используется кремневая кислота. Подвижной фазой служит нормальный гексан.

Для каждой кислоты, исследуемой этими методами, имеется характерный пороговый объем вытекающего из хроматографической трубки гексана.

Применив первый метод для разделения жирных кислот с числом углеродных атомов от 5 до 10, мы не обнаружили в исследуемом веществе ни одной из указанных кислот, тогда как искусственно взятые кислоты (валериановая, капроновая, каприловая и др.) отчетливо определялись.

Второй метод, определяющий жирные кислоты от C_{11} до C_{19} для нашей цели оказался непригодным, так как в исследуемой смеси содержались непредельные жирные кислоты, которые не имели своего объемного порога и, таким образом, мешали определению других кислот. Однако этот метод оказался полезным для другой цели, а именно для очистки нашего вещества от посторонних примесей.

Содержащий жирные кислоты и окрашенный в желтый цвет гексан, пройдя через хроматографическую трубку, был совершенно бесцветным.

После его выпаривания оставалось небольшое количество бесцветных чешуйчатых кристаллов (13 мг) и около 0,2 мл светложелтой маслянистой жидкости.

Кристаллическая масса была осторожно отделена от маслянистой жидкости, высушена в вакуум-эксикаторе и исследована на биологическую активность, на определение кислотного и иодного чисел.

Биологическая активность кристаллов была незначительной: они задерживали рост дифтерийной палочки в разведениях 1 : 1000 и совершенно не задерживали роста золотистого стафилококка.

Кислотное число соответствовало 198, а иодное 59,4. Температура плавления кристаллов была 42,2°. По кислотному числу исследуемое

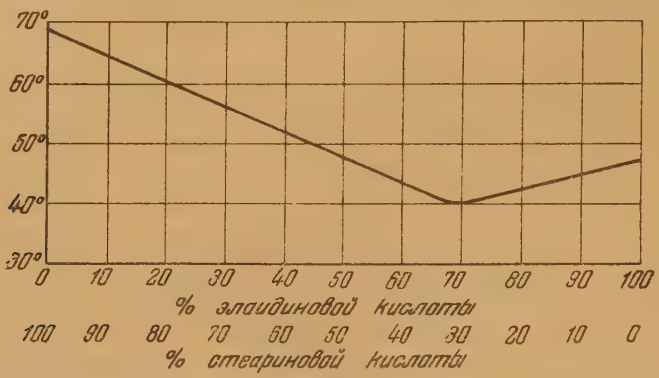


Рис. 2. Кривая точек плавления искусственно составленных смесей элаидиновой и стеариновой кислот

вещество приближалось к стеариновой кислоте (кислотное число последней 197,23).

Однако наличие иодного числа и низкая температура плавления кристаллов (температура плавления стеариновой кислоты 69,3°) заставили нас предположить, что здесь имеется смесь двух кислот очень близкого молекулярного веса, из которых одна является непредельной. Вероятнее всего, что это стеариновая и элаидиновая кислоты. Последняя, являясь изомером олеиновой кислоты, в обычных условиях находится в кристаллическом состоянии (температура плавления 46,5°) и имеет кислотное число 198,63.

Можно было бы на основании иодного числа вычислить процентный состав предполагаемой смеси, но мы для убедительности решили определить этот состав (качественно и количественно) по точкам плавления искусственно составленных смесей чистых стеариновой и элаидиновой кислот.

Эти данные представлены в виде кривой на рис. 2.

Для того, чтобы определить, какой ветви кривой соответствует точка плавления выделенных кристаллов (42,2°), к одной небольшой порции их добавлялась чистая стеариновая, а к другой — чистая элаидиновая кислота и производилось определение температуры плавления. При этом оказалось, что добавление стеариновой кислоты вызывало повышение точки плавления исследуемой смеси, а добавление элаидиновой кислоты — снижение точки плавления.

Стало быть, состав исследуемой смеси следует искать на левой ветви кривой. Температуре плавления 42,2° соответствует смесь из 36% стеариновой и 64% элаидиновой кислоты.

Проверка биологической активности чистых элаидиновой и стеариновой кислот показала, что их действие на дифтерийную палочку очень слабое (1 : 1000 — 2000), а на рост золотистого стафилококка они не оказывают никакого влияния.

Оставшаяся после выпаривания гексана светложелтая маслянистая

жидкость также исследовалась на определение кислотного и иодного чисел.

Как видно из табл. 2, эти определения показали, что исследуемое вещество, повидимому, является олеиновой кислотой. Биологическая активность по отношению к дифтерийной палочке как выделенной из микробных тел кислоты, так и химически чистой олеиновой кислоты оказалась идентичной и исключительно высокой. Рост дифтерийной палочки полностью задерживался в разведениях 1 : 100 000—120 000. На золотистого стафилококка выделенная кислота и олеиновая кислота действовали во много раз слабее — в разведениях 1 : 500—1000.

Таблица 2

Кислотное и иодное число выделенной из микробов кислоты и чистой олеиновой кислоты

Кислотное число		Иодное число	
выделенной из микробов к-ты	олеиновой к-ты	выделенной из микробов к-ты	олеиновой к-ты
201,31	198,63	87,92	89,87

Соли олеиновой кислоты (испытывалась Na-соль) обладали такой же антибиотической активностью, как и сама олеиновая кислота.

Выводы

1. Из микробных тел картофельной палочки выделен ряд жирных кислот (пропионовая, масляная, стеариновая, элаидиновая и олеиновая), обладающих антибиотическим действием по отношению к дифтерийной палочке и золотистому стафилококку.

2. Наибольшей активностью по отношению к дифтерийной палочке из обнаруженных кислот обладает олеиновая кислота, полностью подавляющая рост микроба в разведениях 1:100 000—120 000.

3. Соли олеиновой кислоты действуют на дифтерийную палочку и золотистого стафилококка в таких же разведениях, как и сама кислота.

4. Изомер олеиновой кислоты — элаидиновая кислота — уже не обладает такой высокой активностью по отношению к дифтерийной палочке и полностью лишена способности задерживать рост золотистого стафилококка.

Военно-медицинская академия
им С. М. Кирова
Ленинград

Получено 17. VII. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Минкевич И. Е. и Сироко И. А. Материалы к изучению картофельной палочки и ее антагонистических свойств. Отчеты в НИО ВМА им. С. М. Кирова, 1947 и 1948.
2. Минкевич И. Е. и Цукерман И. А. К вопросу об антагонизме бактерий. Врач. дело, № 7, 574, 1925.
3. Острогорская Л. И. Материалы к изучению антибиотического действия картофельной палочки. Отчет в НИО ВМА им. С. М. Кирова, 1947.
4. Elsden S. R. The application of the Silica gel partition chromatogram to the estimation of volatile fatty acids. Biochem. J., **40**, 252, 1946.
5. Fredericq P., Thibault I. et Gratia A. Recherches sur les propriétés antibiotiques des germes du genre Bacillus. C. R. Soc. Biol., **140**, 1035, 1946.
6. Friedemann T. E. The identification and determination of volatile alcohols and acids. J. Biol. Chem., **123**, 161, 1938.
7. Gratia A. et Thibault I. Les agents antibiotiques des microbes du genre Bacillus. Bull. Soc. chim. biol., **29**, 356, 1947.
8. Hettche H. O. und Weber B. Die Ursache der bakteriziden Wirkung von Mesentericusfiltraten. Arch. Hyg. u. Bakt., **123**, 69, 1939.
9. Peterson M. H. and Johnson M. I. The estimation of fatty acids of intermediate chain length by partition chromatography. J. Biol. Chem., **174**, 775, 1948.
10. Ramsey L. L. and Patterson W. I. Separation and determination of the straight-chain saturated fatty acids C_5 et C_{10} by partition chromatography. J. Ass. Agr. Chem., **31**, 139, 1948.
11. Ramsey L. L. and Patterson W. I. Separation of the saturated straight-chain fatty acids C_{11} to C_{19}. J. Ass. Agr. Chem., **31**, 441, 1948.

БАКТЕРИЯ ИЗ ГРУППЫ BACILLUS MESENTERICUS — АНТАГОНИСТ АКТИНОМИЦЕТОВ

Л. И. Ярмоленко и *М. И. Нахимовская*

Известно, что 40—50% всех выделяемых из почвы актиномицетов являются в той или иной степени антагонистами различных бактерий. В отношении того, что и актиномицеты могут сами подвергаться антагонистическому воздействию со стороны других микроорганизмов, имеются лишь отдельные наблюдения. Нам удалось изолировать бактерию, которая обладала ясно выраженными антагонистическими свойствами по отношению к актиномицетам.

Приводим описание выделенной бактерии: грамположительная спорообразующая палочка 2—4 $\mu \times 0{,}5$ μ; часто образует длинные цепочки. Споры мелкие, овальные, центральные. При спорообразовании клетка не утолщается. Бактерия хорошо растет на мясных и синтетических питательных средах. На МПБ образует легкую муть и мощную складчатую пленку, на агаре — сухой морщинистый налет, легко снимающийся с поверхности питательной среды. Колонии складчатые, морщинистые, сухие, неправильной формы, с неровными краями, грязнобелого цвета, а изредка грязнобурые. Оптимум роста 25—26°. Сбраживает глюкозу, левулезу и сахарозу со слабым кислотообразованием без газа. Не сбраживает мальтозы, маннита, и лактозы. Желатину разжижает медленно, просветляет свернутую сыворотку через два-три дня, полностью разжижая ее через пять дней. Гидролизует крахмал, образует индол, молоко свертывает без подкисления, с последующей пептонизацией.

Пользуясь определителем Красильникова, мы отнесли описанную нами бактерию к группе Bac. mesentericus.

Мы изучали антагонизм этой бактерии в отношении 14 актиномицетов, выделенных из различных источников. Для этого по всей поверхности чашки засевался актиномицет, а в центре или у края производился точечный посев бактерии.

Антагонистическое действие проявлялось лишь в опытах с одновременным посевом. Если бактерия подсевалась к суточной культуре актиномицета, антагонизм или вообще не наблюдался, или был выражен очень слабо (зоны угнетения 0,5—1 мм).

Результат многочисленных опытов одновременного посева сведен в таблице. Из рассмотрения таблицы и рисунков (рис. 1, 2) видно, в чем проявляется антагонистическое действие бактерий на актиномицеты (см. таблицу на стр. 300).

Во-первых, вокруг бактериальной колонии всегда отсутствует видимый рост актиномицета. Эта зона отсутствия роста, так называемая «стерильная зона», может быть различной величины, что зависит от штамма актиномицета и от постановки опыта.

Во-вторых, за «стерильной зоной» следует зона с подавленным образованием воздушного мицелия; лишенные воздушного мицелия колонии приобретают стекловидный характер. У одних актиномицетов участок, лишенный воздушного мицелия, постепенно переходит в нормальный; у других этот переход более резкий, и на границе с нормальным ростом образуется как бы валик с мощным воздушным мицелием, сильнее

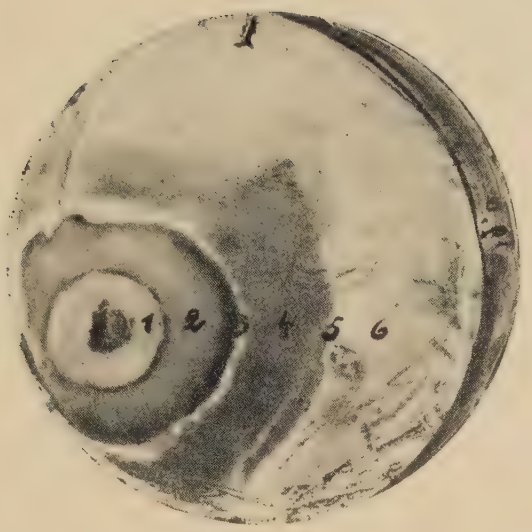


Рис. 1. Одновременный посев бактерий и Act. flavus 124

1 — стерильная зона; *2*— зона отсутствия воздушного мицелия; *3* — узкое кольцо мощного развития воздушного мицелия; *4* — зона отсутствия воздушного мицелия; *5* — второе кольцо усиленного образования воздушного мицелия; *6* — нормальный рост

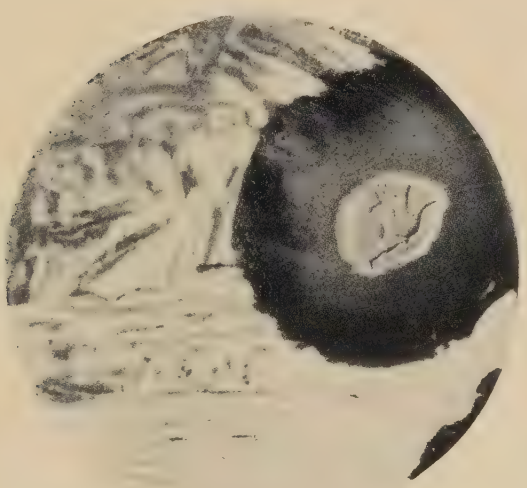


Рис. 2. Одновременный посев бактерии и Act. chromogenes 109

выраженным, чем на остальной поверхности чашки. Иногда на некотором расстоянии образуется второй такой же валик, и тогда бактериальная колония оказывается окруженной несколькими концентрически расположенными зонами, а именно: 1) зоной отсутствия роста актиномицета; 2) зоной отсутствия воздушного мицелия; 3) узким кольцом мощного воздушного мицелия; 4) снова зоной роста без воздушного мицелия и 5) вторым узким кольцом усиленного развития воздушных гиф, за которым начинается нормальный рост (рис. 1).

Таблица

Антагонистическое действие бактерии на различные актиномицеты

Актиномицет	Зона отсутствия роста мм	Зона отсутствия воздушного мицелия в мм	Зона усиленной пигментации в мм
Act. flavus 124 *	15	35	20
„ chromogenes 109 *	15	20	20
„ „ 134 *	12	20	10
„ albus 3 *	15	25	—
„ chromogenes 194 .	6	10	15
„ coelicolor 264 . . .	6	10	15
„ „ 209 . .	6	10	15
„ „ 241 . .	7	10	15
„ „ 44 . .	2	10	15
„ 751	7	образует слабый воздушный мицелий	
„ 754	10		
„ 738	7		
„ 837	8		
„ albus 830	1	10	10

* Актиномицеты-антагонисты

И, наконец, в-третьих, при воздействии бактерий-антагонистов у актиномицетов усиливается пигментообразование. У пигментных форм всегда бросается в глаза очень интенсивно окрашенный участок, который как бы опоясывает «стерильную зону», а иногда и захватывает ее. Даже в тех опытах, когда бактерия подсевалась к суточной культуре пигментного актиномицета и не было видно ни задержки роста, ни усиленной пигментации, при рассмотрении в лупу всегда удавалось увидеть скопления глыбок пигмента, вплотную окружающих колонию бактерии. Мы наблюдали появление пигмента и у непигментированного актиномицета (Act. albus 830), у которого при посеве с бактерией-антагонистом на границе со «стерильной зоной», в радиусе 5—10 мм всегда появлялись ярко окрашенные лимонно-желтые колонии, резко выделявшиеся на общем фоне бесцветных колоний.

Среди актиномицетов, взятых нами для постановки опытов, были и такие, которые в свою очередь являлись антагонистами различных бактерий, в том числе и описанной нами бактерии из группы Bac. mesentericus (в таблице актиномицеты-антагонисты отмечены звездочкой). Если сравнить степень антагонистического действия бактерии (величину зоны отсутствия роста, зоны измененного роста) на различные актиномицеты, то оказывается, что это действие значительно сильнее именно по отношению к актиномицетам-антагонистам. Так, при одновременном посеве нормальный рост этих актиномицетов начинается на наибольшем удалении от колонии бактерий (от 20 до 45 мм), а при подсеве бакте-

рии к суточной культуре актиномицета мы могли обнаружить узкие стерильные зоны до 1 мм только у актиномицетов-антагонистов.

Наши наблюдения лишний раз свидетельствуют о том, как сложны взаимоотношения между различными видами микробов в природе. В зависимости от конкретных условий представители различных видов могут выступать то в роли антагониста, то в роли угнетаемого микроорганизма.

Эти наблюдения показывают, что при взаимном антагонизме между бактерией и актиномицетами создаются особенно обостренные условия борьбы и у микробов как бы усиливается мобилизация средств борьбы. Этим мы можем объяснить большую степень антагонистического воздействия со стороны бактерии на актиномицеты-антагонисты. С этой же точки зрения можно понять и усиленную пигментацию актиномицетов при воздействии антагониста как мобилизацию актиномицетами одного из своих защитных средств — пигмента.

Причиной наблюдаемого нами антагонизма является выделение бактерией веществ, обладающих антиактиномицетным действием. В агаре эти вещества обнаружить почти не удается. Фильтрат жидкой культуры, профильтрованный через фильтр Зейтца, обладает незначительной активностью. Лишь в некоторых опытах разведения фильтрата ($^1/_2$ или $^1/_4$) полностью задерживают рост актиномицетов. Чаще небольшие разведения фильтрата (от $^1/_2$ до $^1/_8$) задерживали рост актиномицета лишь на два-три дня по сравнению с контролем и меняли характер роста. В этих пробирках, где рост наступал с запозданием, он, как правило, был более скудным и всегда только придонным. На поверхности бульона не было ни пленки, ни тем более воздушного мицелия. У пигментных форм, несмотря на очень скудный рост, пигментация в этих пробирках была всегда выражена значительно сильнее, чем в контроле.

Таким образом, характер действия фильтрата совпадает с действием бактерии, наблюдаемым нами при совместном посеве на чашках. Так же как и бактерия, фильтрат подавляет образование воздушного мицелия и усиливает пигментообразование. Слабое действие фильтратов может быть объяснено тем, что вещество частично адсорбируется асбестовой пластинкой при фильтровании через фильтр Зейтца. Нам, однако, до сих пор не удалось освободиться от клеток каким-либо другим способом.

Вещества, образуемые исследованной нами бактерией, не обладают строгой специфичностью в отношении актиномицетов. Спектр их действия шире, так как бактерия является в различной степени антагонистом и других микробов.

Выводы

1. Изолирована бактерия из группы Bac. mesentericus, являющаяся антагонистом различных актиномицетов.
2. Описанная бактерия действует на актиномицеты бактериостатически, а также угнетает образование воздушного мицелия и усиливает пигментообразование.
3. Причиной антагонизма является образование веществ, обладающих противоактиномицетными свойствами.

1-ый Московский ордена Ленина
медицинский институт

Получено 3.VI.1950 г.

АНТИБИОТИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА АЦИДОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

М. С. Полонская

Антагонистические свойства молочнокислых бактерий являются одной из характерных особенностей этих микробов и имеют большое значение при их практическом использовании. Благодаря этим свойствам культуры молочнокислых бактерий нашли широкое применение в промышленности, в медицинской практике, в животноводстве и в ветеринарии.

Однако, несмотря на многочисленные работы, посвященные изучению проявления антагонизма молочнокислых бактерий и его практическому использованию, до настоящего времени мы не имеем единого мнения о факторах, обуславливающих это антагонистическое действие.

Ясно лишь то, что молочная кислота, образующаяся в результате жизнедеятельности этих культур при сбраживании ими сахаров, является важным фактором при их действии на патогенную и непатогенную микрофлору.

Но только ли молочная кислота обладает таким действием, не существует ли какого-либо иного, специфического фактора, характерного для этих бактерий, который действует наряду с молочной кислотой? Этот вопрос до сих пор остается невыясненным.

Так например, одни исследователи — Иванов [6], Приселков [9], Гиль и Колесинская [5] и многие другие, относят благоприятное действие молочнокислых бактерий исключительно за счет молочной кислоты. Другие же — Мечников [8], Белоновский [1], Калинин [7], Верещагина [3], Орла-Иенсен с сотрудниками [10], считают, что, наряду с молочной кислотой, молочнокислые бактерии образуют какие-то продукты обмена, обуславливающие специфические антибиотические свойства этих культур.

В проведенной нами работе мы поставили перед собой задачу выяснить, чем обуславливается антибиотическое действие ацидофильных бактерий на микрофлору, постоянно обитающую в кишечнике человека и животных, в частности на Bact. coli, так как при определении активной кислотности в кишечнике оказалось, что pH не опускается до той величины, при которой может происходить угнетение Bact. coli.

Так, например, известно, что в толстом кишечнике здорового человека pH = 7,3 (Войткевич [4]). Потребление ацидофильного молока, по литературным данным, очень незначительно снижает эту величину (не больше чем на 0,3). Даже при наличии в толстом кишечнике почти чистой молочнокислой микрофлоры, по данным Орла-Иенсена, pH не опускается ниже 6,5.

Для того чтобы установить, обладают ли, помимо молочной кислоты, ацидофильные бактерии какими-либо бактерицидными или бактериостатическими веществами в отношении других микробов, нами были проведены две следующие серии опытов:

1. Действие нейтрализованных пастеризованных культур ацидофильных бактерий на Bact. coli.

2. Действие нейтрализованных фильтратов культур ацидофильных бактерий на Bact. coli.

Для исследования были взяты культуры ацидофильных бактерий, выделенные из фекалий сельскохозяйственных животных (Bact. acidophilum 1Т, 8Т, 1П, КУ6, № 7 и № 15). Эти культуры используются для

приготовления ацидофилина, идущего для скармливания молодняку сельскохозяйственных животных. Тест-объектом служили следующие культуры Bact. coli, также выделенные из кишечника сельскохозяйственных животных,— Bact. coli 36, Bact. coli 39, Bact. coli 2 и коллекционная культура Bact. coli 20 А.

Действие нейтрализованных пастеризованных культур ацидофильных бактерий на Bact. coli

Эта серия опытов проводилась нами по следующей схеме: стерильная молочно-пептонная сыворотка в пробирках по 5—10 мл и в колбочках по 25—30 мл засевалась культурой ацидофильных бактерий и выдерживалась в термостате при 39—40° в течение 2—3 суток. После этого в половине пробирок (колбочек) с культурой ацидофильных бактерий производилась нейтрализация образовавшейся молочной кислоты раствором 1 *N* NaOH, 1 *N* $CaCO_3$ или 10%-ным раствором $NaHCO_3$ до нейтральной или слабокислой реакции. Вторая половина пробирок с культурами не подвергалась нейтрализации. Затем производилась пастеризация на водяной бане как нейтрализованных, так и ненейтрализованных культур при температуре 65—70° в течение получаса. Пастеризованные культуры молочнокислых бактерий заражались бульонной культурой Bact. coli различного возраста и повторно выдерживались в термостате при той же температуре.

Контролем служило развитие чистой культуры Bact. coli на пастеризованной молочно-пептонной сыворотке, доведенной до pH испытуемой культуральной жидкости. Таким образом, pH контроля и испытуемых пробирок был совершенно одинаковым.

Учет степени размножения клеток Bact. coli производился подсчетом в микроскопическом препарате (по Бриду) и высевом на чашки с МПА (табл. 1).

Таблица 1

Размножение Bact. coli в пастеризованных культурах ацидофильных бактерий (через 24 часа)

Предварительная культура	pH среды перед заражением	Количество клеток Bact. coli в тыс. в 1 мл среды (подсчет. по Бриду)	Снижение количества клеток Bact. coli в % по отношению к контролю	Соотношение между количеством клеток Bact. coli в опытных пробирках и контроле	Количество клеток Bact. coli в тыс. в 1 мл среды (подсчет на чашках)	Снижение количества клеток Bact. coli в % по отношению к контролю	Соотношение между количеством клеток Bact. coli в опытных пробирках и контроле
Контроль (Bact. coli 20 А)	7,0—7,1	428 000			404 000		
Bact. acidoph. 7	7,0—7,1	136 000	68,3	1:3,2	124 000	69,4	1:3,3
(пастериз. и нейтрализ.)							
Bact. acidoph 7.	3,8—3,9	0			0		
(пастериз.)							
Bact. acidoph. 8 Т	7,0—7,1	136 500	68,2	1:3,1	116 000	71,3	1:3,5
(пастериз. и нейтрализ.)							
Bact. acidoph. 8 Т	3,8—3,9	0			0		
(пастериз.)							
Bact. acidoph. 1 Т	7,0—7,1	142 000	66,9	1:3,0	138 000	65,9	1:2,9
(пастериз. и нейтрализ.)							
Bact. acidoph. 1 Т	3,8—3,9	0			0		
(пастериз.)							
Bact. acidoph. 1 П	7,0—7,1	152 000	64,5	1:2,8	140 000	65,4	1:2,9
(пастериз. и нейтрализ.)							
Bact. acidoph. 1 П	3,8—3,9	0			0		
(пастериз.)							
Контроль (Bact. coli 20А)	5,6	452 000					
Bact. acidoph. 8 Т	5,6	80 500	82,2	1:5,6			
(пастериз. и нейтрализ.)							
Bact. acidoph. 8 Т	3,8—3,9	0					
(пастериз.)							
Bact. acidoph. 1 Т	5,6	77 000	83,0	1:5,9			
(пастериз. и нейтрализ.)							
Bact. acidoph. 1 Т	3,8—3,9	0					
(пастериз.)							
Bact. acidoph. 1 П	5,6	82 000	81,9	1:5,5			
(пастериз. и нейтрализ.)							
Bact. acidoph, 1 П	3,8—3,9	0					
(пастериз.)							

Как видно из табл. 1, в пастеризованных культурах ацидофильных бактерий, не подвергшихся нейтрализации, клетки Bact. coli не размножались.

В пастеризованных культурах ацидофильных бактерий, нейтрализованных до pH = 7,0—7,1, клетки Bact. coli развивались, причем отмечалось уменьшение их количества по сравнению с нейтрализованным контролем в среднем в 3 раза.

Необходимо отметить, что при более низком pH (5,6) угнетающее действие некоторых культур ацидофильных бактерий Bact. acidoph. 1П, 8Т и 1Т проявлялось сильнее, давая снижение количества клеток Bact. coli в 5,6—5,9 раза.

Таким образом, опыты с пастеризованными культурами показали, что даже если устранить действие кислотности среды, ацидофильные культуры оказывают определенное антибиотическое действие на Bact. coli. При этом при более низком pH (5,6) при нейтрализации мелом это действие сказывается сильнее.

Такие результаты были получены многократно в ряде опытов этой серии. Мы не приводим здесь результатов всех этих опытов ввиду их полного совпадения.

Характерно, что в опытах, в которых изучалось взаимодействие меду живыми культурами ацидофильных бактерий и Bact. coli, мы также получили при низком pH (4,8—5,0) наибольшее снижение количества клеток Bact. coli.

Для того чтобы убедиться, что пастеризация не разрушает интересующие нас продукты жизнедеятельности ацидофильных бактерий, мы считали обязательным поставить серию опытов, в которых бы живые клетки ацидофильных бактерий исключались не действием высокой температуры (65—70°), а фильтрацией через бактериальный фильтр.

Действие на Bact. coli фильтратов культур ацидофильных бактерий

Эта серия опытов проводилась по той же схеме, что и первая, но бактериальные клетки удалялись фильтрацией через мембранный фильтр № 3. Стерильная молочно-пептонная сыворотка в пробирках и колбочках засевалась культурой ацидофильных бактерий и выдерживалась в термостате при 39—40° в течение различного периода времени, в зависимости от варианта опыта. Образовавшаяся молочная кислота нейтрализовалась раствором 1 *N* NaOH или 1 *N* $CaCO_3$ и культуральная жидкость отфильтровывалась через мембранный фильтр. Фильтрат для проверки его на стерильность выдерживался в термостате в течение 2—3 суток при 39—40°, а также высевался на МПБ и молоко. Стерильный фильтрат асептически разливался по пробиркам и заражался культурой Bact. coli. Пробирки с зараженным фильтратом выдерживались в термостате при 39—40°. Контролем служил фильтрат молочно-пептонной сыворотки, нейтрализованный до pH фильтрата испытуемой культуры и зараженный Bact. coli. Степень размножения клеток Bact. coli учитывалась в счетной камере.

В приводимой здесь табл. 2 приведены данные о размножении клеток Bact. coli в фильтрате ацидофильных бактерий при различной величине pH фильтрата.

Как следует из табл. 2, при культивировании Bact. coli в фильтрате ацидофильных бактерий, она в значительной степени угнетается продуктами жизнедеятельности ацидофильных бактерий. Опыты с фильтратами ацидофильных бактерий полностью подтвердили полученные нами ранее данные (опыты с пастеризованными культурами бактерий), что антибиотические вещества ацидофильных бактерий оказывают на Bact. coli более сильное тормозящее действие при низкой величине pH. Так, например, при pH фильтрата = 5,0 (pH контроля был таким же) снижение количества клеток Bact. coli по отношению к контролю (в среднем) составляло 95,22% при pH = 5,5 оно было уже меньшим и равнялось 82,41%; при pH = 6,9—7,0 оно уже составляло только 67,38%.

На факте повышения активности антибиотических веществ ацидофильных бактерий при низкой величине pH мы остановимся несколько

Таблица 2

Размножение Bact. coli в фильтрате ацидофильных бактерий при различной величине pH

Наименование культуры	pH (исходный)	Количество клеток Bact. coli в млн. в 1 мл среды через		Соотношение между количеством клеток Bact. coli в опытных пробирках и контроле (через 24 часа)	Снижение количества клеток Bact. coli в % по отношению к контролю (через 24 часа)
		24 часа	48 час.		
Контроль (Bact. coli 2)	5,0	143,5	311,0		
Bact. acidoph. 1 Т + Bact. coli 2		7,5	8,5	1:19,13	94,77
Bact. acidoph. 1 П + Bact. coli 2		12,0	12,5	1:11,96	91,64
Контроль (Bact. coli 39)	5,0	675,0	820,0		
Bact. acidoph. 1 Т + Bact. coli 39		16,5	15,0	1:40,91	97,56
Bact. acidoph. 1 П + Bact. coli 39		21,0	33,0	1:32,14	96,89
Контроль (Bact. coli. 2)	5,5	375,0	420,0		
Bact. acidoph. 1 Т + Bact. coli 2		77,5	85,0	1:4,84	79,33
Bact. acidoph. 1 П + Bact. coli 2		80,6	82,0	1:4,65	78,51
Контроль (Bact. coli 39)	5,5	431,0	450,0		
Bact. acidoph. 1 Т + Bact. coli 39		51,0	63,0	1:8,45	88,17
Bact. acidoph. 1 П + Bact. coli 39		70,5	96,0	1:6,11	83,64
Контроль (Bact. coli 2)	6,9—7,0	831	846,0		
Bact. acidoph. 1 Т + Bact. coli 2		268	324,0	1:3,10	67,75
Bact. acidoph. 1 П + Bact. coli 2		275	298,0	1:3,02	66,91
Контроль (Bact. coli 39)	6,9—7,0	1105	1051		
Bact. acidoph. 1 Т + Bact. coli 39		381		1:2,90	65,52
Bact. acidoph. 1 П + Bact. coli 39		449	480	1:2,46	59,37
Контроль (Bact. coli 36)	6,9—7,0	805	721		
Bact. acidoph. 1 Т + Bact. coli 36		217	186	1:3,71	73,04
Bact. acidoph. 1 П + Bact. coil 36		228	239	1:3,53	71,68

подробнее. Нами был поставлен ряд опытов по следующей схеме — культура ацидофильных бактерий выращивалась на благоприятной для них среде. Далее вегетативные клетки ацидофильных бактерий убивались пастеризацией или удалялись фильтрованием через бактериальные фильтры. Содержимое колбочки, в которой находились продукты жизнедеятельности ацидофильных бактерий, делилось на несколько частей и в каждой части активная кислотность доводилась до определенной величины pH (5,0—5,6 и 6,9—7,0). После этого производился посев Bact. coli. Оказалось, что при pH = 7,0 снижение количества клеток Bact. coii

по сравнению с контролем, в котором pH также равнялся 7,0, было наименьшим всего в 2—3 раза и не более чем в 5 раз. При pH = 5,6 количество клеток Bact. coli по сравнению с контролем (pH = 5,6) уменьшалось в 20—40 раз и более.

Этот факт также подтверждает то положение, что ацидофильные бактерии образуют в результате своей жизнедеятельности специфические антибиотические вещества.

В самом деле, при pH = 7,0 молочная кислота вряд ли может оказывать неблагоприятное влияние на размножение клеток Bact. coli, тем не менее мы имеем снижение их количества по сравнению с контролем. При pH = 5,0—5,6 снижение количества клеток Bact. coli по сравнению с контролем достигает величины весьма значительной. Вряд ли это имело бы место, если бы единственным антибиотическим фактором ацидофильных бактерий была молочная кислота.

Микроскопическое исследование фильтратов обнаружило морфологическую неоднородность культуры Bact. coli.

При выращивании Bact. coli в фильтрате пятисуточной культуры ацидофильных бактерий оказалось, что морфологические изменения Bact. coli находятся в зависимости от количества клеток, взятых для заражения фильтрата.

Так, например, при внесении 5600 тыс. клеток в 1 мл фильтрата, Bact. coli имела нормальную длину и форму; при уменьшении количества посевного материала в 10 раз (560 тыс. клеток) встречалась Bact. coli различной длины, нормальная (короткая) и длинная. При заражении еще меньшим количеством посевного материала (56 тыс.) преобладали длинные палочки. Очевидно, в данном случае имело место торможение функции деления.

Морфологические изменения, обнаруженные нами при развитии Bact. coli в фильтрате ацидофильных бактерий, имеют, на наш взгляд, сходство с изменениями, описанными для Bact. coli, подвергнутой действию пенициллина.

Для того чтобы иметь уверенность в том, что снижение количества клеток Bact. coli в опытных пробирках не связано с истощением питательной среды предварительно развивавшейся культурой ацидофильных бактерий, нами был проведен специальный опыт с добавлением растворов различных питательных веществ (лактозы, глюкозы, дрожжевого автолизата и т. д.). Результаты этого опыта показали, что добавление этих веществ не снимает угнетающего действия ацидофильных бактерий на Bact. coli.

Антибиотическое действие фильтрата ацидофильных бактерий не может быть объяснено угнетающим действием лактата натрия (кальция). Это было установлено в специально проведенных опытах.

Нами был проведен также ряд опытов, в которых Bact. coli выращивалась в стерильной молочно-пептонной сыворотке, куда добавлялось различное количество фильтрата трехмесячной культуры ацидофильных бактерий.

В стерильную молочно-пептонную сыворотку (в 6 мл) вносилось по 1—2 мл фильтрата трехмесячной культуры ацидофильных бактерий. Контролем служила стерильная сыворотка, в которую добавлялось 1—2 мл фильтрата молочно-пептонной сыворотки (или стерильная вода). Заражение производилось 0,01 мл суточной культуры Bact. coli. Опыт велся при нейтрализации мелом.

Результаты опытов показали, что при культивировании Bact. coli в течение суток в молочно-пептонной сыворотке с добавлением 2 мл фильтрата культуры ацидофильных бактерий снижение количества клеток Bact. coli в процентах по отношению к контролю составляло 72,5. При добавлении 1 мл фильтрата равнялось 43,3%.

Таким образом, при увеличении количества (концентрации) фильтра-

та ацидофильных культур усиливается антибиотическое действие его на Bact. coli.

Такие же результаты были получены нами при культивировании Bact. coli в фильтрате трехмесячной культуры ацидофильных бактерий с добавлением МПБ. В специально проведенных опытах было установлено, что прогревание фильтрата культур ацидофильных бактерий различного возраста при 70—75° в течение 30—40 минут и даже кипячение не лишают его угнетающего действия на размножение клеток Bact. coli. Последнее обстоятельство, очевидно, свидетельствует о термостабильности этих веществ.

Далее нами было установлено, что продукты жизнедеятельности культур ацидофильных бактерий, свежевыделенных из кишечного содержимого животного, оказывают значительно более сильное антибиотическое действие на Bact. coli, чем те же продукты культур, выращиваемых в течение длительного времени на искусственных питательных средах (табл. 3).

Таблица 3

Действие на Bact. coli продуктов жизнедеятельности свежевыделенных культур ацидофильных бактерий

Наименование культуры	Количество клеток Bact. coli в млн. в 1 мл среды через			Соотношение между количеством клеток Bact. coli в опытных пробирках и контроле (через 24 часа)	Снижение количества клеток Bact. coli в % по отношению к контролю (через 24 часа)	Примечание
	1 сутки	2—4 суток	5—10 суток			
Контроль (Bact. coli 2)	386	468	447	1:77,2	98,70	Сразу же после выделения из кишечника животного (в течение первых 2—3 месяцев культура КУ 6 полностью подавляла рост Bact. coli. В фильтрате этой культуры при pH = 5,6—5,9 Bact. coli не давала роста. Исходный pH = = 5,6
Bact. acidoph. КУ 6 +	5,0	4,0	9,5			
+ Bact. coli 2						
Контроль (Bact. coli 39)	302	495	518	1:83,89	98,81	
Bact. acidoph. КУ 6 +	3,6	4,5	8,7			
+ Bact. coli 39						
Контроль (Bact. coli 36)	2165	768	935	1:1665,4	99,94	
Bact. acidoph. КУ 6 +	1,3	2,3	1,8			
+ Bact. coli 36						
Контроль (Bact. coli 2)	918	1154	1156	1:15,05	93,36	
Bact. acidoph. 15 +	61	56	41			
+ Bact. coli 2						
Контроль (Bact. coli 39)	656	805	902	1:29,82	96,65	
Bact. acidoph. 15 +	22	21	25			
+ Bact. coli 39						
Контроль (Bact. coli 36)	246	281	382	1:37,85	97,36	
Bact. acidoph. 15 +	6,5	1,6	2,4			
+ Bact. coli 36						

В фильтрате некоторых культур ацидофильных бактерий, испытанных сразу же после выделения их из кишечника животного, Bact. coli

вообще не вырастала. С течением времени (через два-три месяца культивирования данных ацидофильных бактерий в лабораторных условиях) Bact. coli стала давать рост в их фильтратах, однако антибиотическое действие продуктов жизнедеятельности ацидофильных бактерий все еще во много раз превышало действие фильтратов ацидофильных культур, культивируемых длительное время в лабораторных условиях.

Какова же природа действия ацидофильных препаратов в кишечном канале?

Для подтверждения того, что молочная кислота не является единственным антибиотическим фактором, сошлемся на опыты, проведенные Бибердиевой [2] под руководством Войткевича на животных. Эти опыты показали, что при скармливании ацидофилина происходит лишь ничтожный сдвиг pH в кишечном содержимом (0,26; 0,16).

Вместе с тем, наблюдалось количественное снижение клеток Bact. coli в 11 раз и гнилостных бактерий в 3 раза, при увеличении количества молочнокислых микробов в $3^1/_2$ раза.

Таким образом, наше мнение о наличии у ацидофильных бактерий специфических антибиотических веществ подтверждается также незначительным сдвигом pH в кишечнике при наличии сильного антибиотического действия ацидофилина.

Можно, конечно, предположить, что в кишечнике образуются «микрозоны», в которых и может проявляться действие молочной кислоты на различную микрофлору. Однако это отнюдь не исключает образования ацидофильными бактериями специфических антибиотических веществ, которые играют определенную роль в действии ацидофильных препаратов. Не исключена возможность, что под влиянием молочной кислоты происходит активация антибиотических веществ. Таким образом, роль молочной кислоты, возможно, в данном случае является не прямой, а косвенной.

Следует полагать, что в кишечном канале человека и животного, где ацидофильные бактерии находятся в естественной для них обстановке, в условиях, благоприятных для их существования, их специфическая активность значительно выше, чем в лабораторных условиях на питательных средах, и вполне вероятно, что дополнительный фактор, действующий наряду с молочной кислотой, должен проявиться в первом случае в значительно большей степени.

Выводы

1. Культуры ацидофильных бактерий образуют наряду с молочной кислотой специфические вещества, оказывающие антибиотическое действие на Bact. coli.

2. Эти вещества термостабильны, не разрушаются даже при кипячении и проходят через бактериальные фильтры (мембранные). Характерной особенностью этих веществ является повышение их активности при низкой величине pH (5,0—5,6).

3. Под воздействием продуктов жизнедеятельности ацидофильных бактерий происходит не только снижение количества клеток Bact. coli, но выросшие клетки Bact. coli при этих условиях отличаются от контрольных своими морфологическими свойствами.

4. Продукты жизнедеятельности свежевыделенных из кишечного содержимого животного культур ацидофильных бактерий оказывают более резко выраженное антибиотическое действие на Bact. coli, чем продукты жизнедеятельности культур, выращиваемых в течение значительного времени в лабораторных условиях на питательных средах.

5. Действие препарата ацидофилина в кишечном канале человека и

животного, вероятно, обусловлено также специфическими антибиотическими веществами, выделяемыми ацидофильными бактериями.

Московское отделение
Всесоюзного научно-исследовательского института
сельскохозяйственной микробиологии

Получено 28.IX.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоновский Г. Д. Influence du forment lactique sur la flore des excréments des souris. Ann. Inst. Pasteur, XXI, No. 12, 991, 1907.
2. Бибердиева М. П. К статье Войткевича А. Ф. «Применение ацидофильных культур в животноводстве». Доклады ВАСХНИЛ, вып. 3, стр. 14, 1948.
3. Верещагина В. И. Ацидофильная паста. Новосибирское областное госуд. изд-во, 1946.
4. Войткевич А. Ф. Курс микробиологии молока и молочных продуктов. Пищепромиздат, 1940.
5. Гиль С. А. и Колесинская Л. А. Бактерицидное влияние in vitro ацидофильного молока на микробы колитифозной и дизентерийной группы. Сов. педиатрия, № 9, стр. 69, 1936.
6. Иванов М. М. Бактерицидность ацидофильного молока. Сов. ветеринария, № 5, стр. 58, 1939.
7. Калинин А. М. Ацидофильные микробы, их диссоциация и дифференцировка. Докторская диссертация, Л., 1940. Гос. центр. научн. мед. библ. Мин. здравоохранения.
8. Мечников И. И. Этюды оптимизма, М., 1907.
9. Приселков М. М. Антагонистические свойства бацилл Моро в опытах in vitro и in vivo. Журн. микроб., эпид. и иммуноб., XIX, 591, 1937.
10. Orla-Jensen S., Orla-Jensen A. D. u. Winther O. Bacterium bifidum und Thermobacterium intestinale. Ztbl. Bakt. II Abt., 93, N 18/22, 321, 1936.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАЗВИТИЯ САПРОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРОЦЕССЕ САМООЧИЩЕНИЯ ЗАГРЯЗНЕННЫХ РЕК

Е. В. Дианова и *А. А. Ворошилова*

Многочисленные исследования по самоочищению рек показывают, что напряженность и скорость этого процесса определяются как характером и количеством вносимых загрязнений, так и своеобразием самого водоема. Большое значение имеет солевой состав воды, температура, аэрация, скорость течения, разбавление, наличие или отсутствие ледового покрова, донные отложения, фитозоопланктон, присутствие бактериофага и др. Весь комплекс этих факторов, чрезвычайно сложный, изменчивый, взаимосвязанный, может быть, только частично, нами учтен; часть факторов пока не поддается учету, а часть их, очевидно, нам еще неизвестна. Все это создает большие трудности при выявлении основных закономерностей процесса самоочищения водоема.

Химические и бактериологические санитарные показатели представляют суммарный результат этих воздействий и служат критерием скорости процесса самоочищения. Однако эти показатели далеко не всегда правильно трактуются и расцениваются. Так, в объяснении поведения бактерий в процессе самоочищения реки и причин, обуславливающих это поведение, в настоящее время много противоречий и неясностей. Например, нарастание числа бактерий ниже пункта полного перемешивания одни исследователи объясняют размножением бактерий при минерализации органического вещества [7], другие связывают это явление с размельчением первоначально более крупных скоплений бактерий [7] или же просто ошибкой отбора проб воды для анализа [10]. Убывающая по течению реки скорость отмирания бактерий некоторыми авторами объясняется постепенно наступающим состоянием равновесия между размножением бактерий и поглощением их планктоном [11]. Точно так же замедленную скорость отмирания бактерий в зимний период некоторые авторы связывают не непосредственно с влиянием температуры, а со слабым развитием бактериопоглотителей в зимний период [12]. Такие общепринятые показатели санитарного состояния водоема, как величина $БПК_5$, окисляемость и растворенный в воде реки кислород, самым тесным образом связаны с размножением и деятельностью бактерий; одно обусловлено и обуславливает другое. В то же время характер этой зависимости в реке часто может казаться противоречивым. Так, например, снижение концентрации органического вещества, выраженное по $БПК_5$, и окисляемости воды сочетается в одних пунктах по течению реки с нарастанием бактерий (сапрофитов), в других — с их убыванием [7]. Иной раз одно и то же количество бактерий наблюдается в пункте по течению реки с очень высокой величиной $БПК_5$ и высокой окисляемостью и в той же реке в пункте с низкими химическими показателями. Часто понижение температуры воды вызывает в одном пункте по течению реки уменьшение числа бактерий (сапрофитов), а в другом пункте, ниже лежащем,— повышение их количества при беспрерывно идущем снижении величины $БПК_5$ (Вологда, Днепр, Сухона, Упа [5, 7]).

Такого рода противоречия в наблюдениях расцениваются обычно как случайные или объясняются ошибкой в отборе пробы [10]. Но, как будет показано ниже, такая «случайность» часто оказывается очевидным следствием общей закономерности развития бактерий в благоприятной среде.

Рассматривая деятельность бактерий и связанные с ней биохимические процессы как основное звено в сложной цепи явлений, обуславливающих процесс самоочищения, мы остановимся на поведении сапрофитных бактерий в загрязненных реках. Используя литературные данные и наш материал по самоочищению одной из рек, мы попытаемся объяснить указанные выше «неясности», рассмотрев их в свете общих закономерностей развития бактерий.

Первым этапом в выявлении закономерностей процесса самоочищения обследуемой реки было изучение санитарного состояния ее на раз-

Таблица 1

Количество сапрофитов в 1 мл воды по течению реки в разные сезоны в тысячах

Пункты	1			2				3		4			5			6		
Годы	1945	1947	1948	1945	1947	1948	1949	1947	1948	1946	1948	1949	1945	1947	1948	1946	1947	1948	1949
Лето . . .	430	490	150	483	447	776	365	56	—	132,8	604	148	30,5	7,8	6,9	29,3	4,2	52	54
Осень . . .	IX—220 91,7	IX—2300 255	60,5	273,4	709,3	438	—	727,8	—	312,3	317,4	—	25,3	75,2	35	41	5,2	205,6	47,5
Зима . . .	55,5	70,3	90	—	1021,7	637	423,3	—	1908	121	270	310	256	582	556	460	338,2	182,6	180

ных отрезках и в разные сезоны. Река исследовалась от пункта 2, расположенного в 5 км от спуска очищенных сточных вод очистного сооружения, до пункта 6, находящегося в 138 км от этих стоков. Сточные воды очистного сооружения — это основное загрязнение, поступающее в реку; значительных дополнительных загрязнений, а также и разбавлений на этом протяжении реки не имеется, что облегчает наблюдение за процессом ликвидации внесенного загрязнения. Промежуточные пункты наблюдений были фиксированы в пунктах 3, 4 и 5, расположенных соответственно на 18, 28 и 67 км ниже спуска стоков. Работа проводилась в 1947 и 1948 гг., частично в 1946 и в 1949 гг. Пробы воды для бактериологического анализа отбирались (по 3 параллельные) на указанных пунктах еженедельно, а в пункте 6 — два раза в неделю; помимо того, периодически проводились более детальные (через день) наблюдения в пунктах 2 и 3 в различные сезоны — летом, осенью и зимой. Бактериологические исследования осуществлялись по общепринятой методике характеристики санитарного состояния рек, путем: 1) определения общего количества бактерий на МПА (при 22°) и 2) определения количества Bact. coli на мембранных фильтрах (при 37°). В настоящей статье мы остановимся только на первом разделе работы.

Для более ясной обрисовки хода процесса самоочищения реки мы будем рассматривать весь полученный материал от пункта к пункту, обобщая его по сезонам (табл. 1).

Период летних наблюдений включает июнь, июль, август. Температурный режим (от 19,5 до 21°) в летний период очень благоприятен для развития бактерий и должен вызывать быстрое нарастание количества их еще по пути следования стока в реку. К пункту 2 вода приходит в летний период с количеством бактерий, выражающимся в сотнях тысяч в 1 мл. Дальше идет уже снижение числа бактерий с все понижающейся скоростью: быстрое от

пункта 2 до пункта 3, замедленное до пункта 5 и совсем ничтожное от пункта 5 до пункта 6. Количество бактерий в створе пунктов 5—6 падает до тысячи в 1 мл воды.

Осенний период наблюдений охватывает сентябрь, октябрь, ноябрь. Температурный режим воды в это время года наиболее подвержен колебаниям: температура воды за осенний период падает с 19 до 0° от сентября к октябрю и ноябрю. В связи с постепенным понижением температуры все показатели как химические, так и бактериологические в этот сезон более динамичны, чем летом; по средним данным, в осенний период река приходит в пункт 2 с более высоким числом бактерий и снижение числа их идет медленнее, чем летом. К створу реки (к пунктам 5—6) вода приходит с десятками тысяч бактерий в 1 мл.

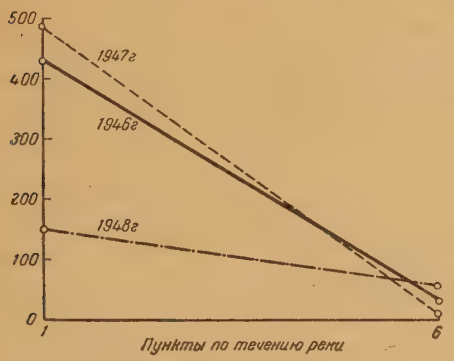


Рис. 1. Количество бактерий в воде реки в пункте 1 и 6 (летний период VI—VII—VIII) в тысячах.

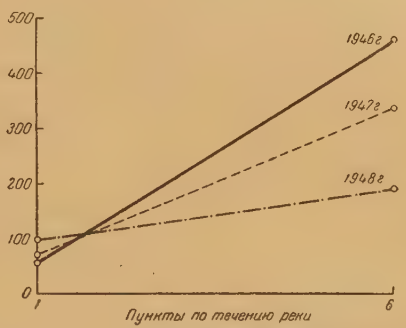


Рис. 2. Количество бактерий в воде реки в пункте 1 и 6 в зимний период (XII— 1 — II — III) в тысячах.

Наблюдения в зимний период относятся к декабрю предыдущего года, январю, февралю и марту следующего года. Температура воды за этот период не имеет больших колебаний. Характерная особенность зимнего режима на исследованной реке — это высокое содержание бактерий в пункте 2, выше летнего и осеннего, причем максимум бактерий наблюдается либо в пункте 2, либо он перемещается еще ниже, в пункт 3, и доходит до 2 000 000 в 1 мл воды. Вторая особенность зимнего периода — сильное запаздывание в спаде бактерий в конечном пункте наблюдений в районе пункта 6. Высокие бактериальные показатели в конечном пункте, выражающиеся в сотнях тысяч в 1 мл воды, свидетельствуют о том, что самоочищение реки в зимний период не заканчивается в пункте 6, но продолжается дальше.

Если сопоставить количество бактерий в воде в пункте 1 — в пункте полного перемешивания очищенных сточных вод с речной водой (в 2 км от спуска стоков) и в пункте 6 за зимний и летний периоды (табл. 1) и изобразить их графически, то по зимним данным мы получим кривые, поднимающиеся от пункта 1 к пункту 6, т. е. в пункте максимального загрязнения зимой бактерий меньше, чем в пункте, отстоящем от него на 138 км, а летом, наоборот, вода в пункте 1 характеризуется более высоким содержанием бактерий, чем в пункте 6 (рис. 1 и 2). Аналогичное явление наблюдается и между пунктами 1 и 5. Следовательно, один и тот же фактор — понижение температуры в одном пункте — в пункте 1 — вызывает уменьшение, а в других пунктах — 5 и 6, наоборот,— увеличение количества бактерий.

Если сопоставить количество бактерий и величину $БПК_5$ в воде, можно заметить, что оба эти показателя, тесно связанные между собой, в отдельных пунктах в разное время года имеют различное соотношение и дают формально противоречивую санитарную характеристику реки. Так, в пункте 1, как правило, низкое содержание бактерий в воде

наблюдается зимой и сочетается с наиболее высокой величиной $БКП_5$, а наибольшее количество бактерий наблюдается здесь летом и сочетается с более низкой величиной $БКП_5$ (табл. 2).

Таблица 2

Количество бактерий и величина $БПК_5$ в воде в пункте 1 летом и зимой

Сезоны	Лето			Зима		
Годы	1946	1947	1948	1946	1947	1948
К-во бактерий в 1 мл воды в тыс. . . .	430	490	150	55,5	70	90
Величина $БПК_5$ . . .	16,5	11,7	10,2	36,3	41,9	29,7

Таблица 3

Количество бактерий и величина $БПК_5$ в воде в пункте 2 летом и зимой

Сезоны	Лето			Зима		
Годы	1947	1948	1949	1947	1948	1949
К-во бактерий в 1 мл воды в тыс.	447	776	365	1022	637	424
Величина $БПК_5$ . . .	12,0	10,2	7,7	40,5	23,9	24,9

В пункте 2 зимой картина прямо противоположная: высокая величина $БПК_5$ сочетается с большим количеством бактерий, а в некоторые годы, как, например, в 1948 и 1949 гг., содержание бактерий в воде летом и зимой было почти одно и то же, в то время как величина $БПК_5$ летом много ниже, чем зимой (табл. 3).

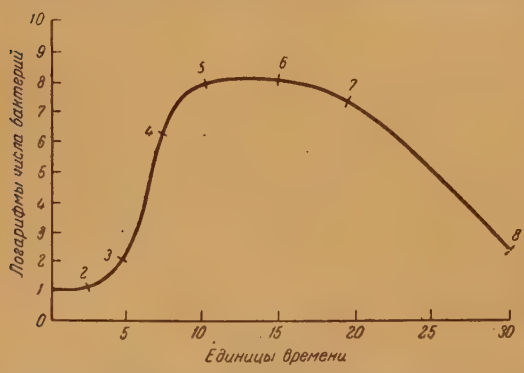


Рис. 3. Кривая размножения бактерий в питательной среде

Чтобы выяснить, что лежит в основе таких характерных явлений в изменении числа бактерий и химических показателей, обратимся к общей схеме развития бактерий.

Известно, что развитие бактерий в благоприятной для них среде протекает во времени закономерным путем и характеризуется определенной кривой, отображающей семь последовательно сменяющих друг друга фаз этого процесса (рис. 3).

Можно полагать, а в некоторых случаях удается подтвердить это фактическим материалом (Упа, Сухона, Свислочь [7]), что и в природ-

ных условиях процесс идет подобным же образом, но обнаружение этой закономерности не всегда возможно, так как наблюдения обычно не захватывают всего цикла развития бактерий. К тому же в таком сложном объекте, как река, дополнительные факторы — выпадение взвешенных веществ, добавочное загрязнение, поступающее со дна, действие планктона, антагонистов, особенности химического и физического режима реки и другие — могут накладывать свой отпечаток на эту кривую. Но во всяком случае эта закономерность развития бактерий может быть положена в основу понимания хода процесса самоочищения загрязненной реки и правильной трактовки бактериальных, а также и химических показателей его.

Один из наиболее мощных факторов, влияющих на скорость размножения бактерий в благоприятной среде и могущих изменять вид указанной выше кривой,— это температура.

По многочисленным литературным данным [1, 4, 8, 9, 13, 14, 15] и по нашим наблюдениям, скорость размножения бактерий и их активность [2, 3 и др.] увеличиваются в среднем в $2^1/_2$ раза (Q_{10} = от 2 до 3) при повышении температуры на 10° (в определенном температурном интервале). Этот температурный коэффициент размножения бактерий, как видно, того же порядка, как и известный коэффициент Вант-Гоффа для химических реакций. Это значение температурного коэффициента развития бактерий было получено в лабораторных опытах. Выявляется ли эта закономерность в природных условиях?

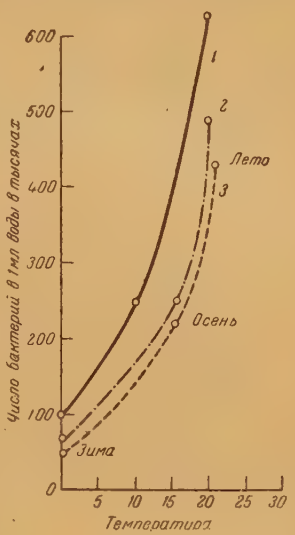


Рис. 4. Интенсивность размножения бактерий в воде реки в пункте 1 в зависимости от температуры

1 — кривая Вант-Гоффа ($Q = 2{,}5$); *2* — количество бактерий в 1 мл воды в 1947 г.; *3* — количество бактерий в 1 мл воды в 1946 г

Вычисляя коэффициент Q_{10} для природных объектов по немногим данным Строганова, мы получаем величину его для разных рек (табл. 4), в большинстве случаев совпадающую с экспериментальной.

Таблица 4

Количество сапрофитов в 1 мл воды в пунктах полного перемешивания зимой и летом

Река	Волга—Горький	Упа	Свислось	Яуза	Сухона
Лето	1460	31 300	200 000	1 534 000	14 800
Зима	230	2 600	15 000	81 300	400
Коэффициент Q_{10}	2,2	2,8	3,1	3,6	4,8

Наиболее подходящим местом на исследованной нами реке для выявления этой закономерности развития бактерий можно считать район полного перемешивания сточных вод с речной водой — пункт 1. Если на оси абсцисс отложить температуры, а на оси ординат — количество бактерий, с каким подходит вода в пункт 1 через один и тот же интервал времени в разные сезоны (1946, 1947 гг.), то мы получим

кривые, аналогичные рядом начерченной экспериментальной кривой скорости развития бактерий в зависимости от температуры (рис. 4). Для приведенных данных находим коэффициент Q_{10}, в среднем равный 2,8.

Предположение, что низкое содержание бактерий в зимний период в пункте 1 могло быть обусловлено другими факторами помимо температуры, как, например, недостаточной концентрацией питательных веществ или недостатком O_2 в воде, отпадает, так как растворенный кислород и величина $БПК_5$ в этом пункте в зимний период остаются выше, чем в летний, как это видно из табл. 5.

Таблица 5

Величина $БПК_2$ и растворенный кислород в воде в пункте 1 в летний и зимний период

Наименование показателей	Сезон	1946		1947		1948	
		O_2 в мг/л	% насыщения	O_2 в мг/л	% насыщения	O_2 в в мг/л	% насыщения
Растворенный в воде кислород	зима	5,9	40	4,5	31	5,5	37
	лето	0,48	5	2,12 *	23	1,63	12
Величина $БПК_5$	зима	36,3		41,9		29,7	
	лето	16,5		11,7		10,2	

Примечание. * Июньская проба воды не учтена

Следовательно, закономерность развития бактерий в зависимости от температуры, найденная в лабораторных опытах, проявляется и в природных условиях — в реке. Как же должно отражаться влияние температуры на кривой размножения бактерий?

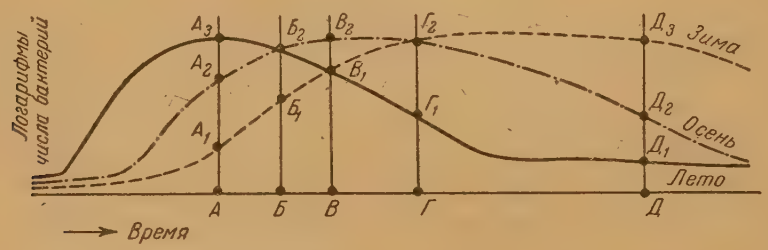


Рис. 5. Схематические кривые развития бактерий в зависимости от температуры

Чем интенсивнее будут развертываться биохимические процессы в связи с повышением температуры, тем быстрее и резче начнут вступать в действие лимитирующие факторы, тем быстрее будут сменять друг друга отдельные фазы развития бактерий. Кривая развития бактерий должна будет в данных условиях иметь крутой подъем, крутой спуск. Наоборот, с понижением температуры в окружающей среде отдельные фазы этой кривой должны быть все более и более растянутыми и пологими. На рис. 5 схематически изображены кривые развития бакте-

рий для трех значений температуры. Из этих кривых явствует, что на один и тот же интервал времени приходятся в зависимости от температуры разные фазы кривой развития бактерий, а в связи с этим различная бактериологическая и химическая характеристика воды.

То, что наблюдается в неподвижной среде во времени, в текущей реке приобретает пространственное выражение. Место нахождения различных фаз кривой размножения бактерий вдоль реки будет определяться не только скоростью процесса самоочищения, но и скоростью течения реки: бо́льшая скорость будет давать еще более растянутые кривые по течению реки, создавая картину как бы более медленных темпов самоочищения, наоборот, замедленное течение даст более крутую кривую.

Таким образом, в зависимости, во-первых, от скорости процессов самоочищения и, во-вторых, от скорости продвижения водной массы в каждом наблюдаемом пункте реки мы можем иметь различную фазу развития бактерий и минерализации органического вещества, а вместе с этим различные бактериальные и химические показатели. И для отдельных пунктов можно получить очень разноречивые бактериальные показатели в связи с изменением температурного режима реки и скорости продвижения воды. Так ли это в действительности? Сопоставим наши данные (табл. 1) с теоретическими кривыми развития бактерий при различной температуре (рис. 5). Наиболее крутую теоретическую кривую примем условно как выражающую ход развития бактерий в летний период; следующую, более пологую — за осеннюю и наиболее растянутую — за зимнюю. Сравним бактериальную характеристику точек *А* и *Д* на схематических кривых: точка *А* характеризуется летом количеством бактерий равным $АА_3$, а зимой — равным $АА_1$, т. е. понижение температуры дает снижение количества бактерий в этой точке. Такую закономерность мы наблюдаем в природных условиях в верхнем пункте 1, где мы имеем повышение числа бактерий от зимы к лету. Точка *Д* характеризуется количеством бактерий летом равным $ДД_1$, а зимой равным $ДД_3$, т. е. понижение температуры сопровождается здесь, наоборот, повышением количества бактерий в воде. Такая закономерность отмечается в пункте 6, где мы имеем обратную картину по сравнению с пунктом 1 — уменьшение числа бактерий от зимы к лету. Если мы соединим точки $А_3$ и $Д_1$, отображающие на кривой количество бактерий в воде в точках *А* и *Д* летом, мы получим ниспадающие кривые, что характерно для летнего периода между пунктами 1—6 (рис. 1). Если же мы соединим точки $А_1$ и $Д_3$, характеризующие пункты *А* и *Д* зимой, мы получаем обратную картину, что наблюдается от пункта 1 к пункту 6 в зимний период, т. е. восходящие кривые (рис. 2). Точка *В* характеризуется одинаковыми бактериальными показателями зимой и летом, но в связи с тем, что летом в точку *В* вода приходит в стадии спада бактерий (рис. 6), а зимой только еще на подъеме, то развитие бактерий и окисление органического вещества в воде в этом пункте должны находиться летом в иной стадии, чем зимой. Такую характеристику имел пункт 2 в 1948 г.: при почти равном количестве бактерий величина $БПК_5$ зимой еще высокая — 23,9, а летом сниженная — 10,2. Эта же закономерность для летнего и зимнего периодов была обнаружена в пункте 2 и в 1949 г. (табл. 5). Одинаковые бактериальные показатели в зимний и осенний периоды, аналогично показателям $ГГ_2$ в точке *Г*, отмечены у нас для пункта 4 в 1948 и 1949 гг.; и здесь, благодаря разной фазности процесса, при одинаковых бактериальных показателях, величина $БПК_5$ осенью равна 7,6 мг/л O_2, а зимой значительно выше (12,6—15,2 мг/л O_2).

Мы должны признать, что бактериологическая характеристика воды в пункте 2 (рис. 6, точки *1, 2, 3, 4*) соответствует той фазе развития бактерий, которая на схематических кривых (рис. 5) помещается в

точке несколько ниже *Г*: максимальное количество зимой, минимальное летом и среднее — осенью. И, если рассмотренная нами закономерность имеет место в естественном водоеме, тогда где-то выше этого пункта мы должны иметь противоположную характеристику воды по сезонам, соответствующую характеристике в точке *А*, т. е. минимальные показатели зимой, а максимальные — летом. В действительности такая характеристика воды наблюдается в пункте 1 (точки *1а*, *2а*, *3а*, *4а* и табл. 2). Кривые изменения количества бактерий в воде по течению реки, нанесенные в соответствии со временем перемещения воды, подтверждают, что на один и тот же створ пунктов 1—6 в зависимости от сезона приходятся различные стадии процесса самоочищения.

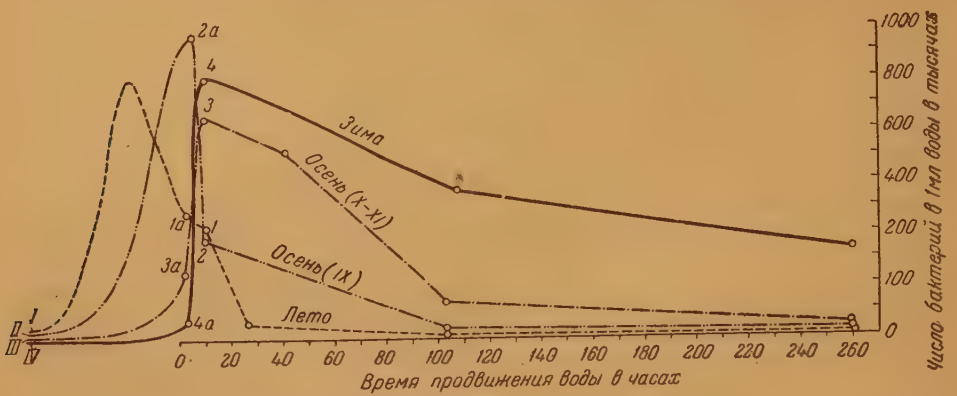


Рис. 6. Изменение количества бактерий в воде реки по ее течению в зависимости от сезона (1947 г.)

На рис. 6 влево от пункта 1 изображены те фазы размножения бактерий, которые должны быть пройдены в разные сезоны до пункта 1.

Одновременно с изменением количества бактерий по течению реки идет снижение велиичны $БПК_5$ и других химических показателей загрязненности реки. Но интенсивность этого снижения изменяется в зависимости от фазы развития бактерий: она максимальная при наиболее быстром нарастании числа бактерий (логарифмическая фаза роста), когда органическое вещество наиболее мобильно, т. е. в начальной стадии процесса, и связано не с уменьшением, а с увеличением числа бактерий. Только когда кривая бактерий начнет падать, понижение величины $БПК_5$ пойдет параллельно со снижением числа бактерий.

Изменение температуры, которое, как уже указывалось, сопровождается перемещением фаз кривой развития бактерий, может привести к самым неожиданным сочетаниям скоростей снижения величины $БПК_5$ для одних и тех же створов реки, но в разные сезоны. Так, например, если в летний период вода приходит к пунктам Б—В в фазе спада бактерий, когда основная масса нестойких органических веществ, возможно, уже окислена, она будет характеризоваться сравнительно низкой величиной $БПК_5$. В зимний период, в силу замедленности развития бактерий и процессов минерализации органического вещества, вода придет к этому же пункту еще богатая легко мобильным органическим веществом. И если скорость разложения этого легко мобильного органического вещества даже при низкой температуре будет больше скорости окисления тех более стойких соединений, с которыми река приходит к этому же пункту в летний период, мы должны получить на участке от пункта Б вниз по течению зимой более быстрое снижение величины $БПК_5$, чем летом. Такая зависимость подтверждается лабораторными исследованиями, а также и на естественных объектах [6, 15].

Неправильное толкование повышенной скорости снижения величины $БПК_5$ в реке при низкой температуре может привести к ошибочным выводам о повышенной скорости процесса самоочищения в зимнее время. Принимая же во внимание все вышеуказанные соображения, мы должны ускоренное снижение величины $БПК_5$ в зимний период расценивать, наоборот, как отрицательное явление, которое указывает на запаздывание процесса самоочищения. Сравнительную оценку скорости биохимического процесса в реке в целом можно получить, сопоставляя либо весь процесс на всем его протяжении, либо одноименные его фазы. В нашем случае мы имеем перемещение фаз в разные створы реки в зависимости от температуры; в одном и том же створе реки в разные сезоны приходится сравнивать различные фазы развития бактерий и минерализации органического вещества. Точно так же вычисления скорости «отмирания» бактерий, которыми пользуются для определения скорости самоочищения, могут дать правильную характеристику процесса лишь в том случае, если имеются данные, характеризующие бактериальную кривую в целом или же при недостаточном количестве наблюдательных пунктов — лишь после перегиба кривой. Само собой понятно, что вычисление скорости процесса, отнесенное к вершине кривой или к какой-либо точке ее восходящей ветви, даст совершенно разные величины. Отсюда ясно, насколько важен правильный выбор пунктов наблюдений на реке и оценка всего процесса самоочищения рек с точки зрения основных его закономерностей.

Выводы

1. Проведенные исследования, сопоставленные с данными других авторов, позволили установить, что биологическое самоочищение загрязненной реки идет в соответствии с основным законом развития бактерий в благоприятной для них среде и характеризуется определенной кривой, имеющей ряд последовательно сменяющих друг друга фаз.

2. В зависимости от темпов развития бактерий характер кривой меняется — она делается либо более пологой, либо более крутой.

3. В изменении темпов развития бактерий решающая роль принадлежит температурному фактору: температура влияет на скорость развития бактерий более или менее одинаково как в экспериментальных условиях, так и в природных водоемах ($Q_{10} = 2—3$).

4. Санитарное состояние отдельных пунктов по течению реки обуславливается той фазой развития бактерий, в которой они приходят с водой к этим пунктам; это зависит от темпов развития бактерий и от скорости течения реки.

5. В различные сезоны вода реки приходит к одним и тем же пунктам с бактериями в разной фазе развития и с разной степенью окисленности органического вещества.

6. В зимний период ввиду замедленности биохимических процессов вода приходит к верхнему створу реки с органическим веществом менее окисленным и более мобильным, чем летом, что сопровождается повышенной скоростью снижения величины $БПК_5$ по течению реки и может привести к ошибочному представлению об ускоренном ходе процесса самоочищения реки в целом в зимний период.

7. По химическим показателям правильную оценку скорости самоочищения реки в разные сезоны можно получить, сопоставляя либо процесс в целом на всем его протяжении, либо однозначные стадии его; по бактериологическим данным — если наблюдением охвачена вся кривая развития бактерий или если определено местонахождение бактериального максимума.

8. Выявленная закономерность развития бактерий в загрязненной реке позволяет: 1) правильно трактовать и расценивать химические и

бактериологические данные, их кажущуюся противоречивость и их соотношение; 2) предвидеть ход процесса самоочищения воды по течению при разных температурных условиях и в зависимости от скорости течения; 3) выявить другие факторы, участвующие в процессе самоочищения реки и изменяющие ход кривой развития бактерий в природных условиях.

9. Одно из наиболее важных мероприятий для ускорения очистки загрязняемой реки в зимний период — это всемерное сбережение тепла сточных вод и возможное утепление при очистке их на очистных сооружениях.

Центральный научно-исследовательский
Санитарный институт
им. Эрисмана

Получено 6.XII.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буткевич Н. В. и Буткевич В. С. Размножение морских бактерий в зависимости от состава среды и температуры. Микробиология, IV, 3, 1936.
2. Имшенецкий А. А. Микробиологические процессы при высоких температурах. Монография. 1944.
3. Лягина Н. М. и Кузнецов С. И. Интенсивность дыхания водных бактерий при разной температуре в лабораторных условиях. Микробиология, VI, 21, 1937.
4. Минкевич И. Е. Бактерии группы кишечной палочки как санитарно-показательные микроорганизмы. Л. 1949.
5. Овсенев С. И. и Михайлов М. В. Санитарное состояние р. Упы в районе Тулы. Гигиена и Санитария, № 6, 1949.
6. Попова Н. М. и Нагибина Т. С. Самоочищение реки Пехорки в нижнем течении после спуска в нее дренажных вод с Люберецких полей фильтраций. Очистка сточных вод. Сб. под редакцией С. Н. Строганова. Акад. коммун. хоз-ва, 1934.
7. Строганов С. Н. Загрязнение и самоочищение водоемов. М. 1939.
8. Barber M. The rate of multiplication of Bact. coli at different temperatures. J. Inf. Dis., 5, 379, 1908.
9. Butterfield C. T. Observation on changes in numbers of bacteria in polluted water. Sew. Works. J., 5, 4, 1933.
10. Frost W. H., Streeter H. W. and others. A study of the pollution and natural purification of the Ohio River. Public Health Bull., No. 143, 343, Washington, 1924.
11. Hoskins J. H. Bacterial purification rates in polluted water. Am. J. Hyg., 21, No. 27, 1935.
12. Viehl K. Einfluss der Temperatur und der Jahreszeit auf die Reinigungswirkung eines Stausses vom Wasser, 12, 246.
13. Waksmann S. A. and Carey C. L. The decomposition of organic matter in seas, I, II. J. Bact., 29, No. 5, 531, 1935.
14. Waksmann S. A. and Renn C. The decomposition of organic matter in seas. III. Biol. Bull. Woods Hole, 70, 472, 1936.
15. ZoBell Cl. E. Some factors which influence oxygen consumtion by bacteria in lake water. Biol. Bull., 78, No. 3, 1940.

ПРИМЕНЕНИЕ КУЛЬТУР ДРОЖЖЕЙ В МАСЛОДЕЛИИ

В. М. Богданов

Вопрос о повышении стойкости масла в настоящее время встал перед молочной промышленностью с особенной остротой в связи с необходимостью длительного его хранения.

Сложность разрешения данной проблемы усугубляется главным образом тем, что масло само по себе является благоприятной средой для развития микроорганизмов, вызывающих в нем появление различных пороков.

Микробиологические процессы, протекающие при хранении масла, чаще всего вызывают понижение его качества. Лишь молочнокислое брожение оказывает положительное влияние на качество кисло-сливочного масла.

Одним из наиболее распространенных пороков, возникающих при хранении масла, нужно считать плесневение. Вследствие того, что плесневые грибы являются строго аэробными микроорганизмами, при своем росте они захватывают только поверхность масла и слой, непосредственно прилежащий к поверхности. В редких случаях (при нарушении структуры) захватываются и внутренние слои масла.

Распространение данного порока зависит не от степени первоначального заражения масла спорами плесневых грибов, а от условий, определяющих развитие данных микроорганизмов. Среди последних решающее значение имеет влажность и температура воздуха; однако и некоторые другие факторы (например, способы обработки и посолки масла) оказывают существенное влияние на развитие плесневых грибов.

Явление антагонизма между микроорганизмами до сего времени не нашло практического использования в качестве средства повышения стойкости сливочного масла.

Само собой разумеется, что для этой цели могут быть использованы только микроорганизмы, не оказывающие вредного влияния на качество масла.

Еще в 1899 г. Северин [4] указывал, что добавление дрожжей к закваске для масла, хотя и создает в нем «дрожжевой» привкус, но как будто повышает его прочность. Паращук [3], исследуя в 1907 г. микрофлору масла северных областей России, отметил, что в тех образцах масла, в которых наблюдалось присутствие молочных дрожжей, не было замечено прогоркания и плесневения.

В 1928 г. в Вологодском молочном институте под руководством Королева [1, 2] был проведен ряд работ, подтвердивших положительную роль некоторых видов дрожжей. Повышение стойкости масла выражалось в замедлении процессов прогоркания и подавлении некоторых других пороков («рыбный» вкус, плесневение).

Королев в заключении своей работы [1] указывает, что «выдвигается вопрос о массовом введении этих дрожжей в производство. Разработка методов приготовления и применения этих культур поставлена на ближайшую очередь».

Однако попытка применения сухой культуры дрожжей в производственных условиях не дала положительных результатов. При приготовлении пересадочных культур (на молочной сыворотке) неизбежно про-

исходило загрязнение закваски посторонней микрофлорой. После этой работы дальнейшие опыты по применению культур дрожжей при выработке масла были прекращены.

Считая безусловно правильными выводы Королева и других авторов в отношении положительного влияния некоторых видов дрожжей на качество масла, мы, приступая к настоящей работе, ставили себе целью с одной стороны, подобрать культуры дрожжей, повышающих стойкость масла, а с другой,— разработать методику практического применения дрожжей в производственных условиях [1].

Методика подбора дрожжей

Так как подбор производственно ценных штаммов связан с выделением и изучением большого количества культур, первоочередным вопросом является разработка методики, позволяющей производить быструю выбраковку дрожжей с вредными для качества масла свойствами.

Основанием для предварительного отбора штаммов должно являться отсутствие или наличие минимальной способности воздействия на основные составные части молока (молочный сахар, белки, жир).

Для определения указанных свойств нами применялись следующие среды.

1. Для определения сбраживания молочного сахара — гидролизованное молоко.
2. Для определения протеолитической активности: 1) молочный агар; 2) стерильное обезжиренное молоко.
3. Для определения липолитической активности: 1) агаровая среда из гидролизованного молока с жиром; 2) гидролизованное молоко с жиром.

Методика исследования

1. Определение сбраживания молочного сахара.

Гидролизованное молоко разливают по пробиркам с «поплавками» и стерилизуют при 1 атм. 10 минут.

Сбраживание молочного сахара устанавливается по образованию газа в маленьких пробирочках («поплавках»).

2. Определение протеолитической активности

1) Молочный агар. К 100 мл расплавленного 2%-ного водного агара добавляют 20 мл стерильного обезжиренного молока. После тщательного перемешивания агар выливают в чашки Петри. Исследуемый микроб засевают на поверхность агара; при наличии у него протеолитической способности вокруг колонии образуются зоны просветления.

2) Стерильное обезжиренное молоко. После заражения исследуемым микробом молоко выдерживают при 30° в течение 5—7 дней. По истечении указанного времени к 5 мл молока добавляют 10 мл дестиллированной воды и 2—3 капли 2%-ного раствора фенолфталеина и титруют 0,1 *N* NaOH до яркорозового окрашивания.

Количество миллилитров щелочи, пошедшее на титрование и умноженное на 20, и указывает кислотность в градусах Тернера. Затем в эту же пробу добавляют 0,5 мл продажного формалина, нейтрализованного по фенолфталеину (до розового окрашивания). Пробу титруют 0,1 *N* NaOH до первоначальной розовой окраски. Количество миллилитров щелочи, пошедшее на титрование после добавления формалина и умноженное на 20, дает показание аминного азота в градусах.

3. Определение липолитической активности

1) Агар с жиром. Небольшое количество (около 10—15 мл) стерильного говяжьего жира в горячем состоянии выливают в подогретую чашку Петри; из нее жир выливают во вторую (то же подогретую) чашку и т. д. Застывший тонким слоем жир заливают агаровой средой из гидролизованного молока (количество вносимого агара должно быть несколько больше обычного).

Исследуемый микроорганизм засевают на поверхность агара. При росте на данной среде липолитических микробов под их колониями происходит резкое побеление жира.

---

[1] Подробная работа проводится Г. Г. Блоком в Вологодском молочном институте.

2) Гидролизованное молоко с жиром. К 100 мл гидролизованного молока добавляют 5 мл свежего топленого масла и стерилизуют при 1 атм. 10 минут.

После посева культуры исследуемого микроба колбы вместе с контрольной выдерживают в термостате при 25° в течение 10—15 дней; затем жидкость сливают, жир тщательно промывают дестиллированной водой, нагревают до плавления и растворяют в 20 мл смеси этилового спирта и серного эфира нейтрализованной 0,1 *N* NaOH. В раствор жира прибавляют 2—3 капли 2%-го раствора фенолфталеина и при постоянном помешивании палочкой титруют водным раствором 0,1 *N* NaOH до появления красной окраски, не исчезающей в течение 2 минут.

Количество миллилитров 0,1 *N* NaOH, пошедшее на титрование, умножают на 20 и получают кислотность жира, выраженную в градусах Кеттсторфера.

Приведенная методика позволяет производить предварительный отбор большого количества выделенных штаммов дрожжей (путем проверки на твердой и жидкой питательной средах) без затраты значительного труда.

Описание свойств отобранных штаммов дрожжей

Используя в качестве источника выделения высокосортные длительно хранящиеся масла, мы выделили несколько сотен штаммов дрожжей и отобрали из них два: $К_3$ и 12.

Характеристика их приведена в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Характеристика отобранных штаммов дрожжей

Штамм	Форма клетки	Величина клетки в μ	Размножение	Спорообразование	Гигантская колония	Рост на сусле	Сбраживание углеводов							Определение родовой принадлежности
							глюкоза	левулеза	лактоза	сахароза	мальтоза	маннит	декстрин	
$К_3$	Клетки округлые без вакуолей и включений	Длина—6,5—2,5, ширина—4,0—2,0	Почки округлой формы	Нет	Буроватая, слизистая	Муть, осадок	+	—	—	—	—	—	—	Сем. Torulopsidaceae Род Torulopsis
12	Клетки округлые и овальные с большими вакуолями и включениями в них	Длина—9,0—5,0, ширина—5,5—4,0	То же	„	Белая бархатистая, ровная	Пленка, муть	+	+	—	—	—	—	—	Сем. Torulopsidaceae Род Torulopsis

Таблица 2

Протеолитическая и липолитическая активность отобранных штаммов дрожжей

Штамм	Молочный агар	Агар + жир	Протеолитич. активность в молоке (в ° аминного азота)	Липолитич. активность в гидролиз. молоке с жиром (в ° Кеттсторфера)
$К_3$	Разложения белка нет	Разложения жира нет	0	0,6
12	То же	То же	2	0,2

Таблица 3

Влияние дрожжей на качество масла

Образец масла	Количество дрожжей			Кислотность жира			Кислотность плазмы			Аминный азот			Органолептическая оценка		
	свежее масло	через 1 мес.	через 2 мес.	свежее масло	через 1 мес.	через 2 мес.	свежее масло	через 1 мес.	через 2 мес.	свежее масло	через 1 мес.	через 2 мес.	свежее масло	через 1 мес.	через 2 мес.
Контроль	—	—	—	1,2	3,4	6,4	10	22	50	14	20	42	46 — чистый вкус хороший аромат	41 — слегка нечистый	36 — слегка прогорклый
С внесением штамма K_3	50 000	3 000 000	2 400 000	1,2	1,6	2,0	10	10	12	14	16	20	46 — чистый вкус хороший аромат	43 — чистый вкус, слабый аромат	42 — невыраженный
С внесением штамма 12	27 000	2 500 000	1 200 000	1,2	2,0	3,2	10	18	24	14	18	24	46 — чистый вкус хороший аромат	43 — чистый вкус, слабый аромат	42 — невыраженный

Приведенная характеристика выделенных штаммов дрожжей указывает на их принадлежность к роду Torulopsis (сем. Torulopsidaceae). Протеолитическая и липолитическая активность их ничтожна.

Влияние дрожжей на качество масла

Опыты проводились в лабораторных условиях и касались изменений качества сладкосливочного масла, выработанного с соблюдением возможно большей чистоты. Отобранные культуры дрожжей вводились в зерно масла. Масло хранилось при +8° в течение двух месяцев.

В процессе хранения производились определения количества дрожжей, кислотности жира и плазмы, показаний аминного азота и органолептическая оценка.

Результаты микробиологического исследования (табл. 3) показывают, что в опытном масле развитие дрожжей протекало интенсивно на протяжении всего срока наблюдения; в контрольном масле кислотность жира и плазмы, а также показания аминного азота были значительно выше, чем в опытных образцах.

Качество опытного масла после двухмесячного хранения было значительно выше контрольного. Если последнее было оценено за вкус и запах 36 баллами и имело прогорклый вкус, то опытное масло было оценено 42 баллами и имело лишь невыраженный вкус.

Помимо указанного, необходимо также отметить характерное влияние исследованных дрожжей на рост плесневых грибов на масле.

На контрольных образцах масла уже через один месяц был обнаружен рост плесневых грибов; через два месяца поверхность была сплошь покрыта ими. На опытном масле лишь в конце хранения на отдельных образцах были заметны единичные колонии плесневых грибов.

Влияние дрожжей на окислительно-восстановительный потенциал среды

Исследованиями установлено, что окислительно-восстановительный потенциал масла с олеистым и рыбным вкусом обычно выше, чем в масле с пороками, обусловленными деятельностью микроорганизмов.

Hietaranta [3] указывает, что в кислосливочном масле (pH = 4,7) происходит быстрый автолиз молочнокислых бактерий, в результате чего наблюдается непрерывное повышение потенциала. При совместном развитии молочнокислых бактерий и дрожжей повышение потенциала замедляется.

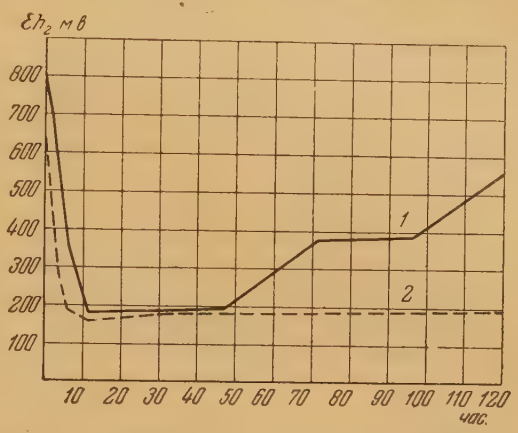


Рис. 1. Изменение окислительно-восстановительного потенциала в молоке

1 — закваска для масла; *2* — закваска с дрожжами

Для проверки этого явления нами были проведены наблюдения над изменением окислительно - восстановительного потенциала в стерильном обезжиренном молоке, зараженном чистыми культурами молочнокислых стрептококков, закваской для масла и их смесью с дрожжами.

В наших опытах характер изменения окислительно-восстановительного потенциала был следующим (рис. 1 и 2): в закваске для масла и ее смеси с дрожжами самая низкая величина потенциала наблюдалась через 11 часов (при 30°) и равнялась соответственно 172 и 166 мв. После этого в закваске с дрожжами величина потенциала оставалась приблизительно на одном уровне до конца опыта.

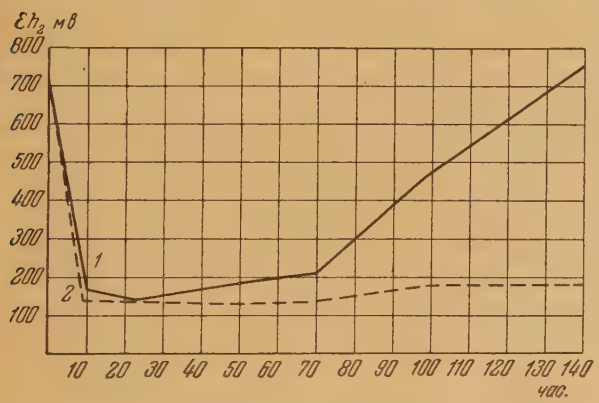


Рис. 2. Изменение окислительно-восстановительного потенциала в молоке

1 — Str. lactis; *2* — Str. lactis с дрожжами

В закваске без дрожжей через 48 часов наблюдалось постепенное повышение потенциала, досигавшее к концу опыта 546 мв.

В чистых культурах Streptococcus lactis и смеси с дрожжами характер изменения окислительно-восстановительного потенциала был в основном таким же, что и в закваске для масла. Следовательно, в этих опытах была подтверждена способность дрожжей задерживать повышение окислительно-восстановительного потенциала среды при совместном культивировании их с молочнокислыми бактериями.

Данное свойство дрожжей безусловно является важным фактором повышения стойкости масла. Вполне возможно, что это свойство дрожжей должно быть включено в число показателей, по которым следует вести их подбор для применения в маслоделии.

Применение дрожжей в производственных условиях

При выработке сладкосливочного масла дрожжи могут применяться только в виде жидких или сухих чистых культур; при выработке кислосливочного масла возможно также использование дрожжей в смеси с молочнокислыми бактериями.

При применении чистых культур дрожжей следует исходить из того положения, что при каждой выработке масла должна употребляться новая порция дрожжей.

Жидкие чистые культуры дрожжей являются наиболее эффективной формой их применения. Они приготовляются путем смыва культуры с косого агара; при необходимости посылки и хранения чистых культур консервирование смыва производится 3%-ным стерильным раствором поваренной соли.

Наши наблюдения показали, что свежие смывы дрожжей содержат сотни миллионов и даже миллиарды клеток в 1 мл.

В процессе двухмесячного хранения при комнатной температуре количество клеток дрожжей в смывах, консервированных поваренной солью, составляет не меньше сотен миллионов в 1 мл.

Положительной стороной смывов является то, что они содержат большое количество клеток дрожжей, находящихся в активном состоянии; к числу их недостатков относится громоздкость приготовления и рассылки. Это значительно сокращает радиус снабжения, ограничивая его приблизительно районом деятельности областной молочно-испытательной лаборатории.

Сухие чистые культуры дрожжей являются более удобной формой их применения: рассылка их даже на большие расстояния не вызывает затруднений.

Сравнение различных способов высушивания культур показало, что практически пригодными из них являются — распылительный метод и сушка при отрицательной температуре (так называемый метод сублимации). При использовании распылительного метода смывы дрожжей перед сушкой вносятся в стерильное обезжиренное молоко. При практическом применении этой сухой культуры в масло вместе с дрожжами, хотя и в очень малом количестве, вводится белок молока; это вызывает возражение со стороны некоторых специалистов.

Данный недостаток может быть устранен применением сушки культур при отрицательной температуре в средах, лишенных белка. При сравнении различных сред лучшие результаты были получены при использовании 15—18%-ного раствора лактозы.

Высушенный порошок содержал около 5% влаги и обладал прекрасной растворимостью.

Содержание дрожжей в сухом порошке, полученном различными способами, приведено в табл. 4.

Таблица 4

Количество дрожжей при различных способах сушки

(в тыс. на 1 г)

Способ высушивания	До высушивания	После высушивания	Через 15 дней	Через 30 дней	Через 45 дней	Через 60 дней
Распылительный метод . .	620 000	510 000	470 000	310 000	—	210 000
Метод сублимации	880 000	5 040 000	3 100 000	2 860 000	2 100 000	720 000

Приведенные данные показывают, что метод сублимации дает лучшие результаты; в свежем порошке, полученном этим методом, количество дрожжей значительно больше, чем при распылительной сушке.

Помимо указанных способов, дрожжи могут применяться в жидких и сухих комбинированных заквасках совместно с молочнокислыми бактериями. Однако данный способ является менее эффективным, так как в комбинированных заквасках содержится сравнительно небольшое количество дрожжей (десятки и сотни тысяч клеток в 1 мл). Кроме того, в процессе пересевов иногда наблюдается почти полное исчезновение дрожжей.

Чистые культуры дрожжей лучше всего вводить в пласт при регулировании содержания влаги в масле. Для этого в добавляемую воду вносят необходимое количество смывов или сухого порошка и после тщательного перемешивания вносят в маслоизготовитель, равномерно распределяя по пласту.

Мы рекомендуем вносить на 1 т масла 50 мл смыва или 50 г сухой культуры дрожжей, количество дрожжей в которых может быть доведено до миллиардов в 1 г. При использовании свежего смыва или порошка, содержащих несколько миллиардов дрожжей в 1 мл, мы будем вносить при этом десятки тысяч клеток на 1 г масла. При использовании культуры, хранившейся один-два месяца, количество вносимых дрожжей будет снижаться до тысяч на 1 г масла.

Качество масла, выработанного с применением культур дрожжей

С целью производственной проверки результатов лабораторных наблюдений, под нашим руководством в 1949 г. было выработано 15 т различных видов масла с применением культур дрожжей. Часть этого масла (5 т) хранилась при положительной температуре (+4, +5°) в течение 5 месяцев; остальное масло (10 т) хранилось при отрицательной температуре (—3, —7°) в течение 18 месяцев.

1. Хранение масла при положительной температуре

По истечении 5 мес. хранения были получены следующие результаты.

А. Сладкосливочное масло

Все контрольное масло было покрыто плесневыми грибами; на масле одного опытного варианта был отмечен рост плесневых грибов. В процессе хранения оценка контрольного масла была снижена за вкус и запах в среднем на 4,7 балла, а опытного — на 4 балла.

Б. Кислосливочное несоленое масло

Все контрольное масло сильно заплесневело; на двух образцах опытного масла были отмечены единичные колонии плесневых грибов. Средняя потеря баллов за время хранения контрольного масла равнялась 3,8 балла, опытного — 2,5 балла.

В. Кислосливочное соленое масло

Все контрольное масло сильно заплесневело; на двух образцах опытного масла был обнаружен незначительный рост плесневых грибов. За время хранения средняя потеря баллов контрольного масла равнялась 5,2 балла, опытного — 2,7 балла.

2. Хранение масла при отрицательной температуре

Наблюдения за изменением микрофлоры масла при отрицательной температуре показали, что в опытных образцах количество дрожжей значительно превосходило контрольные в течение всего срока хранения (18 мес.), достигая сотен тысяч в 1 мл (рис. 3).

Положительное влияние дрожжей на стойкость масла наиболее отчетливо наблюдалось в сладкосливочном и кислосливочном несоленом масле, опытные образцы которого были оценены на 2,1 и 1,3 балла выше контрольных. В кислосливочном масле разница между контрольными и опытными партиями была менее резкой; опытные образцы этого масла были оценены на 0,5 балла выше контрольных.

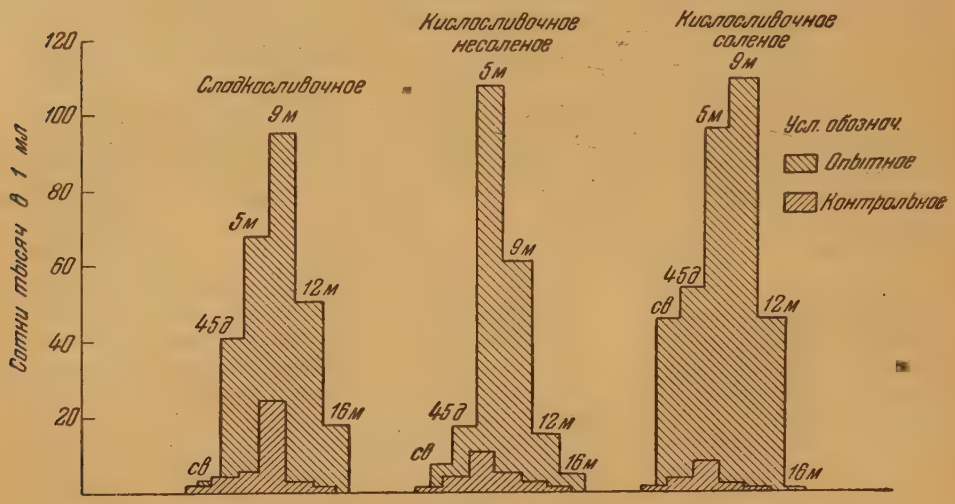


Рис. 3.
Изменение количества дрожжей в процессе хранения масла.

Рост плесневых грибов был обнаружен на трех контрольных партиях сладкосливочного и четырех контрольных партиях кислосливочного несоленого масла; все опытное масло было свободно от плесневых грибов.

Для проверки изменения качества масла с дрожжами в условиях, благоприятных для роста плесневых грибов, в 1949 г. 10 т было отправлено в районы Севера. После хранения в течение 1 года 8 мес. масло было осмотрено в местах назначения. При осмотре было констатировано отсутствие плесневых грибов. Масло имело чистый, хороший вкус.

Отправленное одновременно с этим обычное масло было покрыто плесневыми грибами, проникшими до 10 мм в глубину монолита.

В 1950 г. в районы Севера было отправлено 300 т масла с дрожжами. Масло пришло в места назначения в хорошем состоянии. После шестимесячного хранения масло было свободно от плесневых грибов, появления пороков вкуса и запаха не было отмечено.

Выводы

1. Применение культур дрожжей при выработке различных видов масла в 1948—1950 гг. показало, что некоторые виды дрожжей оказывают положительное влияние на качество масла, повышая его стойкость при хранении и значительно задерживая плесневение.

2. Сущность положительного влияния дрожжей на качество масла может заключаться, с одной стороны, в том, что они задерживают повышение окислительно-восстановительного потенциала среды; вследствие этого в масле замедляются окислительные процессы, вызывающие разложение жира и связанное с этим появление различных пороков. Кроме того, дрожжи оказывают тормозящее действие на развитие протеолитических бактерий; данное свойство дрожжей является также

важным фактором повышения стойкости масла, так как многие протеолитические бактерии разлагают не только белок, но и жир.

В чем заключается сущность тормозящего действия дрожжей на развитие плесеней, окончательно не выяснено. Попытки выделения из культур дрожжей антибиотического начала не дали положительных результатов. Можно лишь предполагать, что дрожжи, обладающие быстрым поверхностным ростом, размножаются быстрее плесневых грибов и тем самым препятствуют прорастанию их спор.

Поэтому вполне целесообразно применять при выработке масла, наравне с видами дрожжей, хорошо развивающимися внутри масла, также виды, обладающие быстрым поверхностным ростом.

3. Предварительный отбор культур дрожжей следует вести по признакам отсутствия у них способности сбраживания лактозы, а также по отсутствию или наличию минимальной способности разложения белков и жира.

Окончательный отбор дрожжей производится на основании их влияния на качество масла.

4. Положительные результаты, полученные при длительном хранении в неблагоприятных условиях масла, выработанного с культурами дрожжей, дают основание рекомендовать широкое применение дрожжей в маслоделии.

Всесоюзный научно-исследовательский институт молочной промышленности
Москва

Получено 13.III.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Королев С. А. О роли дрожжей в процессах, происходящих в масле при его длительном хранении. Тр. Всес. научно-исслед. ин-та молочной промышл., стр. 21, 1930.
2. Королев С. А. Техническая микробиология молока и молочных продуктов. Пищепромиздат, 1940.
3. Паращук. Изв. ярославск. лаб. молочн. хозяйства (Отчет), 1912.
4. Северин. Чистые культуры в маслоделии. Вестник бактериол. агрономич. станции, № 6, 1899.
5. Hietaranta M. Microbial processes in stored butter. XII Intern. Dairy Congr. 2, 472, 1949.

О ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И УКСУСНЫХ УГРИЦ

М. С. Лойцянская и *Н. А. Мовчан*

В аппаратах уксусных заводов очень часто наблюдается массовое развитие уксусных угриц.

На основе наблюдений за поведением этих животных в производственных и в лабораторных условиях Пастер высказал предположение о том, что угрицы питаются бактериями [2]. Это послужило основанием для общепринятого мнения о том, что угрицы, поедая уксуснокислых бактерий, приносят вред уксусному производству [4] и что поэтому необходимо тем или иным способом изгонять их из производственных аппаратов. При изучении микрофлоры высокопроизводительных аппаратов уксусного завода, работающего по скорому способу, нам пришлось наблюдать развитие в них очень большого количества уксусных угриц (10—100 тысяч в 100 мл вытекающего уксуса). Между тем уксуснокислые бактерии этих аппаратов активно окисляли спирт в уксусную кислоту. Это побудило нас провести экспериментальное исследование взаимоотношений уксуснокислых бактерий и уксусных угриц.

Первое литературное сообщение об этих мельчайших животных принадлежит Левенгуку, который наблюдал за их движениями в уксусе.

Уксусные угрицы Anguillula aceti относятся к классу круглых червей. Так как сведения об их анатомии имеются в малораспространенных изданиях [5, 6], мы считаем полезным предпослать экспериментальной части работы краткое описание этих животных.

Тело угриц нитевидной формы, заостренное в задней его части (рис. 1). Они раздельнополы, и половой диморфизм проявляется в различии размеров самок и самцов. Длина самок 1,7—2,4 мм. Самцы мельче, их длина 1,5—1,8 мм. Весьма плотная, гладкая, лишенная щетинок кутикула защищает угриц от неблагоприятных внешних воздействий. Благодаря кутикуле они могут существовать в среде с высокой концентрацией уксусной кислоты и спирта.

От многих других нематод Anguillula aceti отличаются тем, что их ротовое отверстие лишено губ, губных сосочков и чувствительных щетинок, количество и величина которых используются в систематике нематод.

Ротовая полость состоит из двух частей: передней призматической и задней воронкообразной. В последней имеются три зубовидных отростка: один дорзальный — маленький и тупой и два больших острых — субвентральных.

Пищевод, имеющий два небольших вздутия, переходит в кишку, изогнутую в конце. Кровеносная и дыхательная система у угриц, как у всех нематод, отсутствует. Функции выделения выполняют особые выделительные клетки.

Семенники у самцов парные; их выводные протоки открываются в клоаку, где находятся спикулы. Женские половые органы непарные. Яичник в виде слепого мешка переходит в узкую трубочку-яйцевод, в котором развиваются оплодотворенные яйца. В более зрелых из них можно наблюдать движение эмбрионов (рис. 2).

Угрицы живородящи. Длина их при рождении не превышает 0,075—0,080 мм.

Таковы общие данные об уксусных угрицах.

Для решения вопроса о взаимоотношениях уксуснокислых бактерий и угриц необходимо было получить угриц, освобожденных от уксуснокислых бактерий. Наши опыты показали, что угрицы хорошо переносят обработку 30%-ным этиловым спиртом; в такой именно раствор мы их помещали на два часа, в то же время уксуснокислые бактерии после пребывания в 30%-ном спирте в течение полутора часов при последующих посевах не давали роста.

При внесении угриц, обработанных спиртом, в питательные среды для уксуснокислых бактерий развитие бактерий не происходило. Также не наблюдалось развития бактерий и в случае посева в сусло со спиртом кашицы из угриц, обработанных спиртом и растертых в стерильных условиях в ступке.

Таким образом для отделения угриц от уксуснокислых бактерий мы воспользовались различной выносливостью этих организмов к спирту.

Рис. 1

Рис. 2

О питании уксусных угриц

Опыты по выяснению вопроса о том, питаются ли угрицы уксуснокислыми бактериями, проводились нами следующим образом.

Мы помещали угриц в различные питательные среды, как содержащие бактерии, так и без них, и наблюдали затем за их поведением и за изменением количества живых угриц.

Нами были использованы следующие питательные среды: 1) сусло; 2) дрожжевая вода; 3) синтетическая среда с дрожжевой водой ($NH_4H_2PO_4$ — 0,03%; KH_2PO_4 — 0,02%; $MgSO_4$ и K_2SO_4 по 0,005%,

дрожжевой воды — 10%); 4) та же синтетическая среда (без дрожжевой воды) и 5) 3%-ный раствор уксусной кислоты в водопроводной воде. Когда необходимо было получить развитие в этих средах уксуснокислых бактерий, перед посевом чистой культуры Bact. curvum к ним добавлялся этиловый спирт до концентрации 3%. Опыты проводились в пробирках с 4 мл питательной среды; в каждую из них вносилось по 5 живых угриц. Температура культивирования 30°.

В табл. 1 приводятся данные о выживании угриц и изменениях их количества в различных условиях.

Таблица 1

Изменение количества уксусных угриц в зависимости от различных условий питания (внесено по 5 угриц)

Питательная среда	Развитие бактерий	Количество живых угриц			Продолжительность жизни угриц в сутках
		через 7 суток	через 35 суток	через 56 суток	
1. 3%-ная уксусная к-та	—	3	0	0	10
2. 3%-ная уксусная к-та + 3% спирта	+	6	0	0	14
3. Дрожжевая вода	—	7	0	0	21
4. Сусло	—	9	0	0	20
5. Минер. синтетич. среда	—	7	0	0	15
6. Минер. синтетич. среда с дрожжевой водой	—	8	0	0	26
7. Минер. синтетич. среда с дрожжевой водой с 3% спирта	+++	10	18	81	>56
8. Дрожжевая вода с 3% спирта . .	++++	8	27	109	>56
9. Сусло с 3% спирта	++++	10	29	128	>56

Примечание. ++++ очень хорошее развитие; +++ хорошее развитие; + слабое развитие; — отсутствие развития.

Из табл. 1 следует, что наилучшие условия для существования угриц создаются в тех питательных средах, которые благоприятны для развития уксуснокислых бактерий. Так, например, в дрожжевой воде со спиртом при развитии Bact. curvum число их увеличилось за 8 недель в 22 раза (было 5, стало 109), тогда как в той же среде без спирта, где развития бактерий не было, угрицы не размножались и через 2—3 недели погибали. Очевидно, бактерии являются для них хорошей пищей, тогда как растворенные органические вещества сусла и дрожжевой воды не обеспечивают угриц всем необходимым для их питания.

Уксусная кислота вряд ли может быть использована для питания таких высокоорганизованных существ, как угрицы, хотя такое мнение было высказано [3].

В естественных условиях обитания — в аппаратах уксусных заводов — угрицы могут питаться только уксуснокислыми бактериями, так как других микроорганизмов там нет.

Нас заинтересовал вопрос, насколько угрицы приспособлены к этой пище, могут ли они питаться бактериями других групп или же в результате длительного сосуществования с уксуснокислыми бактериями они приобрели избирательную способность питаться бактериями только этой группы.

Для выяснения этого мы помещали по пять экземпляров угриц, предварительно обработанных спиртом, в пробирки со стерильной водой, куда добавлялся смыв одной из следующих агаровых культур: Bac. subtilis, Serratia marcescens, Bact. curvum и наблюдали за угрицами.

В пробирках с Bac. subtilis и Serratia marcescens угрицы жили обычно только несколько дней, не размножались и вскоре погибали, тогда как при возможности питаться клетками Bact. curvum они интенсивно размножались и жили более двух месяцев. Пять угриц, внесенных в эти пробирки, давали огромное потомство: их число увеличивалось в 30—40 раз.

Из испытанных нами бактерий только уксуснокислые служили пищей уксусным угрицам.

В этом мы убедились также и следующим образом. На пластинки сусло-агара производился посев Bact. curvum и Bac. subtilis. Затем на эти пластинки вносились угрицы, предварительно обработанные спиртом (10—20 экземпляров на чашку). Спустя 5—6 суток мы наблюдали, что внутри колоний Bact. curvum поселялись угрицы. Они активно двигались в пределах колоний, благодаря чему последние приобретали неправильную форму (рис. 3). Угрицы, находящиеся в колониях, отличались исключительно крупными размерами и упитанностью.

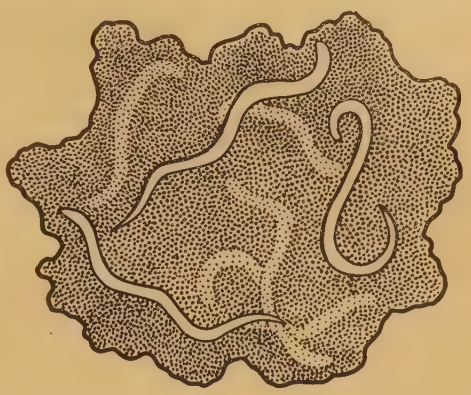


Рис. 3

В чашках с колониями Bac. subtilis угрицы никогда не обнаруживались внутри колоний и даже рядом с ними.

Когда мы помещали угриц на поверхность сусло-агаровых пластинок с заранее выращенными колониями Bact. curvum и Bac. subtilis, то вскоре все угрицы поселялись только в колониях уксуснокислых бактерий.

Таким образом, можно утверждать, что уксусные угрицы избирательно относятся к бактериям. Не все бактерии в одинаковой степени могут служить им пищей.

Условия жизни в уксусном производстве совместно с уксуснокислыми бактериями сформировали определенные требования угриц к пище, в результате чего угрицы предпочитают уксуснокислых бактерий другим микроорганизмам.

О влиянии выделений уксусных угриц на уксуснокислые бактерии

Бактерии скорого способа производства уксуса отличаются от других уксуснокислых бактерий способностью интенсивно окислять этиловый спирт, выносливостью к высоким концентрациям спирта и уксусной кислоты и своими особыми требованиями к питательной среде.

В результате замены вина, богатого органическими питательными веществами и витаминами, ранее использовавшегося в качестве сырья в производстве уксуса, водным раствором спирта и минеральных солей создались новые условия жизни для уксуснокислых бактерий, культивируемых в этом производстве. Это и изменило их требования к питательной среде.

Последние характеризуются тем, что бактерии способны усваивать азот минеральных солей и не нуждаются в готовых витаминоподобных веществах — они способны их сами синтезировать [1]. Следует, однако, отметить, что в лабораторных условиях на синтетических средах, содержащих только минеральные соли и спирт, бактерии скорого способа производства уксуса растут всегда несколько хуже, чем на сусле и в дрожжевой воде.

В производстве уксуса по скорому способу для удовлетворения потребности бактерий в необходимых веществах им дают: спирт, уксусную кислоту, минеральные соли и иногда небольшие количества сусла. При характеристике условий питания уксуснокислых бактерий в производственных условиях обычно не учитываются те изменения в питательной среде, которые происходят в аппарате в связи с развитием в них угриц.

Между тем эти изменения могут иметь большое значение в питании бактерий.

Какое же влияние оказывают продукты жизнедеятельности угриц на уксуснокислые бактерии? Могут ли эти вещества усваиваться уксуснокислыми бактериями и оказывать влияние на процесс окисления спирта? Для выяснения этого мы поставили следующие опыты.

В ряд пробирок со стерильной водой мы помещали по 20 угриц в каждую. Через трое суток угрицы удалялись, в эти пробирки добавлялся спирт в количестве 3% и производился посев Bact. curvum. Контролем служили посевы Bact. curvum в стерильной воде со спиртом. Культивирование производилось при 30°. Обычно на четвертые сутки в тех пробирках, где выдерживались угрицы, наблюдалось образование бактериальных пленок и окисление спирта, тогда как в контрольных пробирках развития не было. Это показывает, что уксуснокислые бактерии могут использовать продукты жизнедеятельности уксусных угриц.

Влияние живых угриц на развитие и окислительную деятельность уксуснокислых бактерий мы выяснили таким образом. В пробирки с синтетической средой с 3% спирта мы одновременно помещали 20 угриц и производили посев Bact. curvum.

Развитие бактерий происходило нормально, образовалась пленка в виде островков, заметных повреждений которых угрицами в первые дни культивирования не наблюдалось.

На третий день мы определяли общую кислотность титрованием децинормальным раствором NaOH (табл. 2).

Таблица 2

Кислотообразование Bact. curvum в присутствии уксусных угриц и без них

№ опыта	Кислотность на 100 мл среды в мл 0,1 *N* NaOH	
	без угриц	с угрицами
1	116,25	265,00
2	125,00	367,00
3	157,50	326,00

Из этих опытов следует, что кислотообразование происходит значительно лучше в синтетической среде в присутствии угриц, чем без них.

Таким образом, данные, которые мы получили, говорят о том, что вещества, выделяемые угрицами способствуют росту бактерий и окислению ими спирта.

Это подтверждается сообщением производственников о том, что в аппаратах с большим содержанием угриц кислотность обычно не падает и в этих случаях часто наблюдается наиболее высокая производительность.

Повидимому, длительное существование уксуснокислых бактерий совместно с угрицами в условиях уксусного производства привело к такому изменению требований бактерий к условиям окружающей среды, что в отсутствии угриц или продуктов их жизнедеятельности они хуже развиваются и менее активно окисляют спирт.

При оценке роли уксусных угриц как вредителей уксусного производства обычно учитывается только одна сторона их взаимоотношений с уксуснокислыми бактериями — поедание бактерий угрицами. Между тем эти отношения оказались более сложными.

Угрицы питаются уксуснокислыми бактериями, поедают их и одновременно выделяют в окружающую среду вещества, способствующие развитию тех же бактерий. Они изменяют состав питательной среды,

делая ее более благоприятной и для развития бактерий и для окисления ими спирта в уксусную кислоту.

Выводы

1. Экспериментально доказано питание уксусных угриц (Anguillula aceti) уксуснокислыми бактериями (Bacterium curvum). При этом установлено, что угрицы предпочитают уксуснокислых бактерий другим бактериям.

2. Выяснено, что уксуснокислые бактерии могут использовать для своего развития продукты жизнедеятельности угриц.

3. В условиях эксперимента в присутствии живых угриц и выделяемых ими веществ уксуснокислые бактерии образуют большее количество уксусной кислоты.

Ленинградский
государственный университет
им. А. А. Жданова

Получено 5.XI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Медвинская Л. Ю. Синтез «биоса» Bact. schüzenbachi. Микробиология, XVI, 235, 1947.
2. Пастер Л. Исследования о брожениях. Мемуар об уксусном брожении. 1937.
3. Чеснокова С. Я. Изготовление уксусных настоев. Пищепромиздат, 1938.
4. Шапошников В. Н. Техническая микробиология, М. 1948.
5. de-Man J. G. Die frei in der Erde und in süssen Wasser lebenden Nematoden der Niederländischen Fauna. 1919, Leiden.
6. Micoletzky H. Die freilebenden Erd-Nematoden. Archiv Naturgeschichte, Abt. A, H. 8 u. 9, 1921.

К МЕТОДИКЕ АНАЛИЗА КОНСЕРВОВ

Т. И. Нехотенова

Известно, что современные способы стерилизации консервов, несмотря на усовершенствование в технике, не всегда обеспечивают полную стерильность продукта. Наблюдения многих исследователей показывают, что споры бактерий, выдержавшие процесс стерилизации, при длительном хранении консервов могут в них прорастать.

Одним из наиболее распространенных способов выявления остаточной микрофлоры консервов является термостатная выдержка. Термостатная выдержка, однако, не дает возможности выявлять все случаи нестерильности консервов. После термостатной выдержки отбраковываются бомбажные банки и, таким образом, выявляется только та группа бактерий, которая в процессе развития образует газы; но и эта группа бактерий выявляется в недостерилизованных консервах при термостатной выдержке далеко неполностью.

Кроме того, наблюдается много случаев порчи консервов без бомбажа — так называемое плоское скисание. Бактерий, вызывающих такую порчу консервов, выявить термостатной выдержкой не удается. Поэтому, наряду с термостатной выдержкой, проводится обязательный выборочный микробиологический анализ продукции. Микробиологический анализ должен определить число нестерильных банок и выяснить качественный состав сохранившихся в них микроорганизмов. На основании данных микробиологического анализа при необходимости изменяется режим стерилизации, поэтому методы определения стерильности консервов должны быть чувствительны и точны.

Таблица 1

Исследование овощных консервов на стерильность по стандартной методике и высевами на твердую среду

Серии анализов консервов	Количество анализов в серии	Нестерильность в %	
		по стандартной методике	на твердой среде МПА с глюкозой
I	933	35,0	30,6
II	2676	7,6	13,7
III	3676	16,0	38,4

Современные стандартные методы определения стерильности консервов, к сожалению, большой чувствительностью не отличаются.

Согласно указаниям стандартной методики, из содержимого исследуемой консервной банки делается высев: для проверки наличия аэробов на МПБ и МПБ + глюкоза и для анаэробов — на среду Тароцци.

Мы попытались проверить, насколько достоверны результаты определений таким методом наличия в консервах спор аэробных бактерий. С этой целью из трех партий консервов (7285 анализов) дополнительно к высевам на жидкие питательные среды производились высевы на твердую питательную среду — МПА с глюкозой. Результаты этих исследований приведены в табл. 1.

Сравнивая показатели нестерильности, полученные по стандартной методике и при высевах на твердую среду (табл. 1), можно видеть, что при высоком проценте нестерильности оба метода дают почти совпадающие результаты. При небольшом проценте нестерильных банок в исследованной партии методом высева на твердую среду обнаруживается в той же партии вдвое больше нестерильных банок.

Мы попытались выяснить причины указанного явления. Чтобы проверить, способны ли выросшие на агаре бактерии расти на жидкой среде, производилось большое число соответствующих пересевов. Все высевы бактерий с твердой среды на жидкую дали нормальный рост.

Исходя из предположения, что большое количество (1,0—1,5 г) посевного материала, вносимого в пробирку с бульоном, может сместить pH среды в направлении, неблагоприятном для прорастания бактерий, мы проверяли pH бульона в пробирках, засеянных стандартным количеством исследуемых консервов, имевших кислую реакцию (табл. 2).

Таблица 2

Изменение pH среды при внесении в нее консервов

Консервы	pH		
	консервов	МПБ с глюкозой+консервы	МПБ+консервы
Рассольник . . .	5,56	7,26	7,36
Щи	5,92	7,34	7,31
Борщ	5,64	7,34	7,31
Свекольник . . .	5,73	7,34	7,31

Таблица 3

Исследования стерильности консервов

Количество спор в 1 г продукта по высеву на твердую среду	Число анализов	Число и % нестерильных банок по высевам на жидкие среды	
		по стандартной методике	по высевам из болтушки
1	15	4 (26,6%)	5 (33,3%)
2—3	10	4 (40%)	5 (50%)
4 и более	9	5 (55,5%)	6 (66,6%)

Как видно из табл. 2, pH в засеянных средах не смещается и, стало быть, это не может помешать прорастанию спор.

Наконец, для выяснения зависимости между числом спор, сохранивших жизнеспособность в консервах после стерилизации, и результатами определения нестерильности этих консервов стандартным методом был проведен ряд специальных анализов.

В этих анализах параллельно стандартной пробе производились высевы на твердую и жидкую среду из болтушки, приготовленной в стерильной водопроводной воде из содержимого консервной банки. Высевы на твердую и жидкую среду производились по расчету из 1 г продукта. Результаты анализов сведены в табл. 3.

Анализируя таблицу, мы видим, что количество спор, оставшихся жизнеспособными после стерилизации консервов, незначительно.

Сопоставляя данные, полученные по стандартной методике и высевами на твердую среду (где учтено количество проросших спор), можно видеть значительное расхождение в прорастании спор на жидких и твердых средах. На твердых средах прорастает спор значительно больше, чем в жидких. Прорастание спор в жидких питательных средах связано с количеством их в среде.

Если прорастание спор на твердых средах принять за 100%, то по отношению к ним прорастание в жидких средах, где находилась одна спора, составляет только 26,6%, с увеличением количества спор в посевном материале увеличивается и процент случаев их прорастания.

Следует отметить также, что высевы из болтушки в жидкие среды во всех случаях дают повышенный процент прорастания спор по сравнению с высевами по стандартной методике, несмотря на то, что по стандартной методике в пробирку вносится 1—1,5 г исследуемого продукта, в то время как при высеве из болтушки ее количество всегда соответствовало только 1 г.

Известно, что споры, перенесшие нагревание, часто прорастают очень медленно. В то время как обычно прорастание спор происходит

через один-два дня, у прогретых спор прорастание иногда наблюдается через один-два месяца (Алеев и Чистяков [1], Великанов [3], Севедж [4], Рогачева [5]). Каких-либо специальных указаний относительно различия прорастания прогретых спор на жидких и твердых средах найти в литературе нам не удалось. Только в руководствах Баумгартнера [2] и Таннера [6] для определения наличия спор аэробных бактерий в остаточной микрофлоре стерильных консервов рекомендуется применять твердые агаровые среды.

Таблица 4

Влияние нагревания на прорастание спор бактерий (Bac. mesentericus ruber)

Время прогревания при 100° в мин.	Рост на МПБ	Рост на МПА
20	+	100—120 колоний
30	+	60—80 „
40	+	50—60 „

Поэтому, для сопоставления прорастания спор на жидких и твердых средах, нами были проведены специальные опыты с чистыми культурами бактерий, выделенных нами из нестерильных консервов.

Для этих опытов готовилась суспензия спор бактерий в возрасте 25—30 дней. Смыв с агара производился МПБ. Равномерно размешанная суспензия поровну разливалась в три пробирки, которые прогревались 20, 30 и 40 минут при 100°. Из прогретых пробирок делались высевы на МПБ и агар. Результаты этих опытов, приведенные в табл. 4, показывают, что длительность прогрева спор не сказывается на прорастании их на твердых и жидких средах. Во всех опытах в посевах находилось довольно большое количество спор (табл. 4).

Во второй серии опытов прогретая в течение 20 минут при 100° суспензия спор сильно разбавлялась стерильной водой и высевалась в различных количествах так, чтобы в посевах было 1—2 споры, в бульон и на агар. Результаты этих опытов приведены в табл. 5.

Таблица 5

Влияние разведений культур на их прорастание в жидких и твердых средах

Культура \ Разведение	1		2		3		4		5		6		7	
	МПБ	МПА	МПБ	МПА	МПБ	МПА	МПБ	МПА	МПБ	МПА	МПБ	МПА	МПБ	МПА
Bac. subtilis	+	25	+	6	+	4	—	2	—	3	—	2	—	1
„	+	25	+	8	+	5	—	2	—	—	—	—	—	—
Bac. mesentericus ruber	+	65	+	17	+	2	+	3	—	1	—	—	—	—
	+	24	+	9	+	3	—	1	—	1	—	—	—	—

Примечание. + рост на средах, — отсутствие роста. Цифры — количество проросших спор на МПА.

Результаты опытов, приведенные в табл. 5, показывают, что в тех посевах, где на твердой среде прорастает 1—3 споры, в параллельных пробирках с бульоном прорастает всего лишь 27% посевов. Если же количество проросших спор на твердых средах оказывается больше четырех, то и в параллельных им высевах на бульон наблюдается стопроцентное прорастание.

Выводы

1. Существующая стандартная методика определения стерильности консервов в отношении аэробных бактерий недостаточно чувствительна. При малой обсемененности исследуемых продуктов, при наличии в 1 г

продукта одной-двух жизнеспособных спор в большинстве посевов прорастания этих спор не наблюдается.

С увеличением количества жизнеспособных спор в посевном материале увеличивается число случаев их прорастания в жидких средах.

2. Высев консервов на твердые питательные среды для аэробных бактерий оказывается более чувствительным методом проверки стерильности, чем стандартная методика.

При исследовании стерильности консервов при помощи твердых сред и стандартным методом число обнаруженных в одной и той же партии нестерильных банок в первом случае оказывается значительно выше.

Всесоюзный научно-исследовательский институт консервной промышленности
Москва

Получено 12.IX.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алеев Б. С. и Чистякова Ф. М. Микробиология консервирования. Пищепромиздат, М., 1945.
2. Баумгартнер И. Г. Введение в микробиологию консервного производства. Пищепромиздат, М., 1948.
3. Великанов И. М. Микробиология консервов. Снабтехиздат, 1935.
4. Севедж В. Консервы как продукт массового питания. Снабтехиздат, 1934.
5. Рогачева А. И. Стерилизация консервов. Пищепромиздат, М., 1943.
6. Tanner F. W. The Microbiology of Foods. Illinois, 1944.

ОБ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АКТИНОМИЦЕТОВ-АНТАГОНИСТОВ ПРОТИВ ФУЗАРИОЗНОГО УВЯДАНИЯ ХЛОПЧАТНИКА

Г. М. Кублановская

Жизнедеятельность почвенных микроорганизмов, как это установлено акад. В. Р. Вильямсом и экспериментально подтверждается работами ряда авторов, является одним из основных факторов, определяющих плодородие почвы. В понятие повышения почвенного плодородия входит и борьба с болезнями растений, возбудители которых так или иначе связаны с почвой, заражая растения через корневую систему, семена и т. д.

Микрофлора почвы, ее состав и активность могут в значительной степени регулироваться в нужном направлении соответствующей агротехникой, но особенно мощным регулятором состава почвенной микрофлоры, согласно учению Вильямса [4] и ряду работ Красильникова [8, 9, 11, 14], Березовой [3] и др., является растительный покров, причем селекционирующим фактором могут являться не только живые растения, но и мертвые растительные остатки.

Примерами могут служить хлопчатник, который накапливает в почве вертициллиум (возбудитель вертициллиозного увядания) и подавляет развитие миколитических бактерий, и люцерна, накапливающая в почве миколитических бактерий — антагонистов Verticillium и подавляющая развитие этого гриба [12, 13, 16].

Естественно, что в таких случаях, как, например, с вертициллиозным увяданием, накопление антагонистов в почве при помощи соответствующего растения является наиболее рациональным путем использования антагонизма между микробами для оздоровления почвы. Однако этот путь не во всех случаях удается использовать. В частности, это относится к объекту настоящей работы — возбудителю фузариозного увядания хлопчатника Fusarium vasinfectum.

Существующие в настоящее время меры борьбы с этим заболеванием сводятся, в основном, к выведению устойчивых сортов. До сих пор не найден предшественник, оздоравливающий почву от этого заболевания. Опыты Соловьевой и Поярковой [20] по испытанию ряда сельскохозяйственных культур в этом направлении не дали положительных результатов. Не дали положительных результатов также опыты с внесением ряда минеральных и органических удобрений (Соловьева и Пояркова [20]).

Хотя выведение устойчивых сортов — чрезвычайно эффективный метод борьбы, однако при большой изменчивости возбудителя этого заболевания и возможности приспособления его к новым устойчивым сортам, использование этого метода не снимает вопроса о снижении количества инфекции в почве.

Необходимо, следовательно, попытаться использовать другие методы направленного изменения почвенного биоценоза. Многими исследователями [1, 5, 6, 21] испытывался и рекомендуется для использования метод искусственного обогащения почвы полезными микробами.

В области борьбы с болезнями растений путем метода использова-

ния бактерий-антагонистов этот метод испытывался многими авторами. Наиболее широко поставлены и эффективны были опыты использования миколитических бактерий [22] против болезней льна [2], пшеницы [18, 23] и против фузариоза сеянцев сосны [15]. Поэтому, приступая к изысканию биологических методов борьбы с фузариозным увяданием хлопчатника, мы начали наши исследования также с выделения миколитических бактерий и испытания их в вегетационных опытах против фузариозного увядания хлопчатника по методике, применявшейся упомянутыми выше авторами.

Экспериментальная часть

Среди выделенных нами из различных источников 450 чистых культур бактерий миколитические культуры составляли около 20%, но из них подавляющее большинство после одного-трех пересевов теряло свою миколитическую способность. Иногда и в первом же пассаже в лизированной культуре через некоторое время обнаруживался повторный рост фузариума. Культуры же, активно лизирующие Fusarium vasinfectum и сохраняющие более или менее длительно это свойство, составляли только около 2% всех выделенных чистых культур бактерий. Четыре наиболее активные культуры — три из рода Pseudomonas и одна из рода Clostridium — были испытаны в вегетационных опытах против фузариозного увядания хлопчатника. Учитывая указания Красильникова, мы предварительно поставили опыты в простерилизованной почве для выяснения приживаемости наших штаммов в почве и в ризосфере хлопчатника.

Оказалось, что бактерии эти хорошо размножаются в почве и в ризосфере хлопчатника. Затем были поставлены вегетационные опыты по испытанию указанных четырех культур против фузариозного увядания хлопчатника.

Опыты ставились в стерильной и нестерильной почве. Методика внесения антагонистов в обоих случаях была одна и та же.

Опыты обнаружили отсутствие защитного действия испытывавшихся бактерий против фузариозного увядания хлопчатника в почве. Бактерии эти вызывали лишь некоторую задержку заболевания во времени в вазонах с флуоресцирующими штаммами. Эта временная задержка в проявлении заболевания отчетливо обнаруживалась в стерильной почве, в нестерильной же почве она была выражена значительно слабее, что объясняется, повидимому, угнетающим действием почвенных микроорганизмов.

Повидимому, фузариум — возбудитель увядания хлопчатника — вследствие своих биологических особенностей и условий существования в почве выработал большую устойчивость к воздействию других микроорганизмов, в частности бактерий.

Помимо литературных данных [27], указывающих на выделение многими видами фузариума антибактериальных веществ, подтверждением этому предположению служит то обстоятельство, что люцерна, накапливающая миколитических бактерий, среди которых есть и виды, лизирующие фузариум, все же не оздоравливает почву от фузариума — возбудителя увядания хлопчатника. О большей устойчивости Fus. vasinfectum по сравнению с Verticillium dahliae говорят и многочисленные лабораторные наблюдения и опыты. Так, при исследовании различных почв, арычного ила, навоза, компоста, все эти материалы вызывали лизис фузариума в гораздо меньших разведениях, чем лизис Verticillium. Самый процесс лизиса фузариума протекал гораздо менее интенсивно, чем лизис Verticillium. Кроме того, в большинстве случаев в лизированных культурах наблюдался повторный рост фузариума. При

испытании антагонистического действия триходермы обнаружено то же самое. Оно оказалось значительно выше по отношению к вертициллиуму, чем к фузариуму. Такие же результаты дало испытание неочищенного пенициллина и аспергиллина. Все это привело к мысли о необходимости для подавления фузариума в почве изыскания микроорганизмов с особенно сильными и стойкими антагонистическими свойствами. Мы остановили наше внимание на актиномицетах.

Основанием для перехода к работе именно с группой актиномицетов послужили данные Красильникова [12], Нахимовской [19] и других исследователей о наличии большого процента активных антагонистов именно в группе актиномицетов и о большой устойчивости и разнообразии их антагонистических свойств. Кроме того, ряд авторов, проводивших испытание актиномицетов против фитопатогенных грибов и бактерий также получили положительные результаты [24, 25, 26].

Изыскание антагонистов против фузариума — возбудителя увядания хлопчатника — производилось путем выделения актиномицетов из различных источников и испытания их антагонистических свойств против фузариума.

Пробы почвы для выделения актиномицетов брались от двух до десяти раз в течение вегетационного периода. Выделение актиномицетов производилось двумя способами.

1. Обычным микробиологическим методом рассева материала в чашки Петри на среду Чапека с мелом.

2. Методом «ловушек», которые приготовлялись путем закладки между стеклами грибной пленки, выращенной на жидкой среде и тщательно от этой среды отмытой. Пленки фузариума для приготовления ловушек для актиномицетов должны быть достаточно плотными, 15—20-дневного возраста. При влажности почвы 12—16% и температуре 25—30° через 5—6 дней пленка, как правило, покрывается колониями актиномицетов. При менее благоприятных условиях температуры и влажности актиномицеты появляются позже. Актиномицеты, выросшие на грибных пленках, отсевались сначала на водный агар, на котором почти не растут посторонние организмы, а затем из культуры на водном агаре делались рассевы на соответствующую питательную среду (Чапека с мелом и др.).

Методом «ловушек» было выделено в полтора раза больше антагонистических штаммов, чем обычной микробиологической методикой (разлив в чашки). Метод этот был предложен нам в 1948 г. Головиным для выделения миколитических бактерий и был использован нами для выделения актиномицетов.

В результате выделений актиномицетов указанными методами получено 196 штаммов актиномицетов, из которых 95 штаммов, т. е. 48,3%, оказались антагонистами по отношению к Fus. vasinfectum. Антагонистические свойства актиномицетов испытывались методом комочков, описанным Красильниковым в 1941 г. [10].

В табл. 1 представлено распределение выделенных нами штаммов актиномицетов по источникам, из которых они выделены.

В числе выделенных нами штаммов имеются антагонисты различной активности, причем антагонистов, образующих на среде Чапека стерильные зоны радиусом 2—6 мм, выделено 15, т. е. 7,6% от общего числа актиномицетов, а антагонистов высокоактивных, образующих стерильную зону радиусом 6—17 мм, выделено 17, т. е. 8,7%. Остальные штаммы антагонистов образуют стерильные зоны радиусом 0,5—2,3 мм. Некоторые из них лизируют Fus. vasinfectum, Vert. dahliae и Ps malvacearum [1].

[1] Испытание выделенных антагонистических штаммов актиномицетов в отношении Ps. malvacearum проводилось аспирантом СоюзНИХИ С. Аскаровой.

Некоторые культуры антагонистов Fus. vasinfectum активны также, не только по отношению к Ps. malvacearum, но и по отношению к Bact. coli и Staphylococcus aureus.

Таблица 1

Количество антагонистических к Fus. vasinfectum **штаммов актиномицетов, выделенных из различных источников**

Происхождение штаммов актиномицетов	Выделено штаммов актиномицетов	Выделено антагонистов	
		абс. количество	в % к общему количеству актиномицетов
Навоз	37	22	59,4
Вертициллиозный провокационный фон	32	16	50
Фузариозный провокационный фон	21	9	43
Ил арычный	28	14	50
Ил активированный	22	12	54,5
Дувал	4	1	25
Садовая почва	25	10	40
Целинная почва	4	3	75
Ризосфера люцерны	14	8	57
Ризосфера ежи сборной	1	—	—
Прочие	8	—	—
Всего	196	95	48,3

Таким образом, наибольшее количество антагонистических штаммов выделено из навоза, из ризосферы люцерны и из активированного ила. Хотя из целины в процентном отношении выделено наибольшее количество антагонистов, однако ввиду незначительного числа выделенных штаммов это нами в расчет не принималось так же, как и небольшой процент антагонистов, выделенных из дувала.

Полученные данные о количественном распределении актиномицетов — антагонистов фузариума по различным местам обитания совпадают с данными других авторов (Нахимовская [19] и др.), которые также находили наибольший процент актиномицетов — антагонистов к Bac. mycoides и другим тест-объектам в навозе, иле и т. д. Из полученных нами данных интересно отметить, во-первых, высокий процент актиномицетов — антагонистов фузариума в ризосфере люцерны и, во-вторых, максимальное количество наиболее активных антагонистов, обнаруженных в почве из провокационного фузариозного фона, хотя общий процент антагонистических штаммов здесь ниже, чем по другим источникам. Повидимому, это является результатом влияния условий местообитания, насыщенности почвы провокационного фона фузариумом.

Однако и при наличии активных антагонистов, как известно, наиболее трудной задачей является изыскание способов эффективного использования их в почве. Следовательно, наряду с обнаружением активных антагонистов, важнейшей задачей является нахождение тех особых преимущественных для данного микроба условий, которые обеспечивали бы его преобладание или во всяком случае достаточно интенсивное размножение в данной почве, в данном биоценозе.

Ввиду этого при выборе методики для постановки вегетационных

опытов мы руководствовались данными Красильникова, Березовой и других авторов о том, что актиномицеты в первые периоды роста растений играют незначительную роль в ризосфере и только на более поздних стадиях начинают там значительно развиваться. Между тем фузариум поражает хлопчатник не только во взрослом состоянии, но, главным образом, в стадии сеянцев, в первые четыре-шесть недель роста. Следовательно, внесение актиномицетов только при помощи обработки ими семян может не обеспечить достаточное их размножение в почве и в ризосфере в первый период роста.

С другой стороны, как указывают Красильников [13] и Канивец [5, 6, 7], обогащение почвы теми или иными полезными микроорганизмами можно производить и путем применения компостов, естественно или искусственно обогащенных нужными микробами в виде удобрений или подкормки.

Учитывая это, мы вначале использовали в качестве компоста очистки картофеля, зараженные перечисленными ниже штаммами актиномицетов. Все предназначенные для испытаний штаммы актиномицетов предварительно были проверены на их влияние на проростки хлопчатника. Некоторые из них оказались стимуляторами роста, как явствует из табл. 2.

Таблица 2

Влияние внесенных в почву антагонистических к фузариуму штаммов актиномицетов на рост хлопчатника

№ штамма	Высота растений 20-дневного возраста в см
Контроль	12,5—13,6
11	13,6—16,6
13	15,3—16,0
19	15,8—16,5
32	15,8—17,3
35	12,0
36	16,8—17,5

Методика постановки вегетационных опытов со штаммами № 11, 13, 19, 32, 35, 36 и 60б (последний испытывался только в нестерильной почве) была следующей: почва в цветочных вазонах заражалась культурой актиномицетов, выращенных на очистках картофеля из расчета 8—10 г на вазон. В контрольные вазоны актиномицеты не вносились. Вазоны оставлены на два месяца для развития актиномицетов на вегетационной площадке. Через два месяца во все вазоны была внесена культура Fus. vasinfectum на рисе [2], после чего в вазоны высеяны семена хлопчатника сорта № 910, восприимчивого к фузариозному увяданию. В каждом варианте опыта было 22—25 растений. Первый и второй опыты отличались друг от друга тем, что первый ставился в стерильной, а второй — в нестерильной почве.

Результаты вегетационных опытов представлены в табл. 3 и 4.

Из табл. 3 и 4 видно, что один из штаммов, № 32, снижает количество заболевших растений на 32% в нестерильной почве и на 44% в стерильной почве. Другой штамм, № 36, дает значительное снижение заболевания — на 53% только в стерильной почве. Штамм № 60б снижает число заболевших растений в нестерильной почве на 30%. Небольшое снижение заболевания (22%) дал штамм № 19 только в стерильной почве.

Прибавка больных растений за последние 7 дней в вариантах № 19, 32 и 36 в табл. 3 и в вариантах № 32, 36 и 60б в табл. 4 была не за счет растений с внешними признаками заболевания, а за счет растений с потемневшими сосудами, обнаруженными при срезах стеблей.

Остальные испытанные штаммы только в большей или меньшей степени вызывают задержку заболевания во времени.

Помимо описанных выше, были поставлены два опыта с актиномицетом № 50, активным в отношении Vert. dahliae.

---

[2] По методике Соловьевой, обеспечивающей 100% гибель восприимчивого сорта хлопчатника в течение 15—20 дней.

Таблица 3

Влияние внесения в стерильную почву актиномицетов-антагонистов на поражаемость хлопчатника фузариозным увяданием (опыт 1)

Сроки наблюдений после появления всходов	№ штаммов актиномицетов						Контроль
	11	13	19	32	35	36	
	% больных						
Через 12 дней	27	11	4	4	8	0	82
„ 20 „	68	21	13	26	58	3	100
„ 30 „	78	82	65	52	75	36	100
„ 37 „	100	84	78	56	100	47	100

Таблица 4

Влияние внесения в нестерильную почву актиномицетов-антагонистов на поражаемость хлопчатника фузариозным увяданием (опыт 2)

Сроки наблюдений после появления всходов	№ штаммов-актиномицетов							Контроль
	11	13	19	32	35	36	60б	
	% больных							
Через 12 дней	50	22	7	4,5	33	0	0	56
„ 20 „	72	55	33	22	50	25	39	82
„ 30 „	95	94	92	64	83	82	52	100
„ 37 „	100	100	100	68	100	90	70	100

Актиномицет этот, неантагонистичный к фузариуму, очень активен в отношении Verticillium, давая на среде Чапека стерильную зону радиусом в 15 мм.

Рис. 1. Слева—контроль, справа—два вазона, обработанные актиномицетом № 60б

Испытание производилось по методике Соловьевой следующим образом: в почву, помещенную в стеклянные банки, вносились микросклероции Vert. dahliae и вставлялись сухие, очищенные от коры кусочки

веток тутовника. В опытные банки, кроме того, за 10 дней до внесения микросклероциев, вносился смыв культуры актиномицета № 50.

Опытные и контрольные банки до внесения микросклероциев поливались водой до оптимальной влажности, а после внесения микросклероциев контрольные банки попрежнему поливались водой, а опытные — таким же количеством 20-суточной культуральной жидкости актиномицета № 50, выращенного на среде Чапека. Банки выдерживались при 25—28° 15 дней, после чего палочки вынимались, очищались от почвы и путем микроскопирования срезов потемневшей ткани устанавливалось наличие в ней микросклероциев Vert. dahliae, образовавшихся вследствие прорастания гриба в ткань палочек.

Первый опыт поставлен в нестерильной почве, второй — в стерильной.

Результаты этих двух опытов представлены в табл. 5.

Таблица 5

Влияние актиномицета № 50 на внедрение Verticillium в палочки и образование микросклероциев

№ опыта	Контроль		Опыт	
	общее к-во палочек	к-во палочек со склероциями	общее к-во палочек	к-во палочек со склероциями
1	48	25 (54%)	28	2 (7%)
2	10	7 (70%)	10	0 (0)

Как видно из табл. 5, испытанный нами штамм актиномицета подавляет в значительной степени развитие микросклероциев Vert. dahliae в почве.

Полученные нами данные указывают, что группа актиномицетов является чрезвычайно перспективной для изыскания стойких антагонистов в отношении гриба Fus. vasinfectum, возможно, и в отношении других фитопатогенных грибов и бактерий. Наши данные дают основание рассчитывать, что внесение в почву соответствующих растительных отходов, обогащенных актиномицетами-антагонистами (и являющихся одновременно органическим удобрением), сможет привести к значительному оздоровлению почвы от инфекции фузариозного увядания.

Выводы

1. Выделено 196 штаммов актиномицетов, среди которых 95 штаммов (48,3%) антагонистов Fus. vasinfectum.

2. При испытании в вегетационных опытах 8 штаммов актиномицетов 3 штамма дали положительный результат, снизив заболевание хлопчатника фузариозным увяданием в нестерильной почве на 30—32%, а в стерильной — на 44—53%.

3. Испытанные в вегетационных опытах штаммы актиномицетов — антагонистов Fus. vasinfectum, кроме защитного действия, обнаружили стимулирующее действие на рост хлопчатника.

4. Выделен штамм актиномицета антагонистический к Vert. dahliae, подавляющий развитие микросклероциев в почве.

5. Полученные результаты, являющиеся только началом работы в этом направлении, говорят о целесообразности дальнейших исследований как по изысканию максимально активных актиномицетов-антагонистов под различными культурами в различных почвах хлопкосеющих

районов Средней Азии, так и по изучению условий и методов их наиболее эффективного использования.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт хлопководства
Ташкент

Получено 9.II.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В. Г. и Зак Г. А. Бактерии, разрушающие алюмосиликаты (силикатные бактерии). Микробиология, XIX, вып. 2, 1950.
2. Березова Е. Ф. Бактеризация семян, как метод борьбы с болезнями льна. Микробиология, VIII, вып. 6, 1939.
3. Березова Е. Ф. Микрофлора ризосферы льна. Тр. Всес. н.-иссл. ин-та микробиологии ВАСХНИЛ за 1941—1945 гг. Сельхозгиз, 1949.
4. Вильямс В. Р. Почвоведение. Сельхозгиз, 1938.
5. Канивец И. И. Значение заражения микроорганизмами почв в целях окультуривания. Микробиология, VII, вып. 3, 1938.
6. Канивец И. И. Почвенный гриб Trichoderma lignorum. Киев, 1940.
7. Канивец И. И. О зонах взаимодействия корневых систем и микроорганизмов в почве в связи с процессами структурообразования. Сб. памяти акад. В. Р. Вильямса, стр. 155, 1942.
8. Красильников Н. А. Влияние корневой системы на микрофлору почвы. Микробиология, V, вып. 2, 1936.
9. Красильников Н. А. О влиянии микроорганизмов на рост растений. Микробиология, IX, вып. 4, 1940.
10. Красильников Н. А. Определитель актиномицетов. М., 1941.
11. Красильников Н. А. Влияние растительного покрова на состав микрофлоры в почве. Микробиология, XIII, вып. 5, 1944.
12. Красильников Н. А. Антибиотические вещества микроорганизмов. Журн. общей биологии, VIII, 1947.
13. Красильников Н. А. Микроорганизмы почвы и урожайность растений. Агробиология, № 2, 1949.
14. Красильников Н. А. и Никитина Н. И. Влияние разлагающихся корней на состав микрофлоры в почве. Почвоведение, № 2, 1945.
15. Красильников Н. А. и Разницина Е. Борьба с фузариозом сеянцев сосны. Агробиология, № 5—6, 1945.
16. Кузина В. П. Тезисы XIX пленума секции защиты растений. ВАСХНИЛ, Сталинабад, 1949.
17. Лысенко Т. Д. Агробиология, М., 1949.
18. Наумова А. Н. Влияние бактеризации семян на поражаемость всходов яровой пшеницы грибными паразитами и на ее урожай. Микробиология, VIII, вып. 2, 1939.
19. Нахимовская М. И. Антагонизм между актиномицетами и почвенными бактериями. Микробиология, VI, вып. 2, 1937.
20. Соловьева А. И. и Пояркова Л. В. Фузариозный вилт, Ташкент, 1945.
21. Федоров М. В. Влияние на урожай искусственных органических удобрений, приготовленных по новой методике компостирования. Микробиология почвы. Всес. научно-иссл. ин-т удобрений агротехн. и агропочвов., т. II, труды, вып. V, М., 1937.
22. Худяков Я. П. Литическое действие почвенных бактерий на Fusarium. Бюлл. Моск. об-ва испытат. природы, Отд. биол., XLIV (6) 324, 1935.
23. Худяков Я. П. и Разницина Е. Применение миколитических бактерий путем бактеризации при яровизации пшеницы. Изв. АН СССР, биолог. серия, № 1, 1939.
24. Darpoux H. and Faivre-Amiot A. Sur un actinomycète doué de propriétés bactériolytiques remarquables. C. R. Paris, CCXXVI, 1146, 1948.
25. Meredith Cl. H. The antagonism of Actinomyces to Fusarium oxysporum cubense. Phytopath., XXXIII, 403, 1943.
26. Meredith Cl. H. The antagonism of soil organisms to Fusarium oxysporum cubense. Phytopath., XXXIV, 426, 1944.
27. Texera D. A. Production on antibiotic substances by Fusaria. Phytopath., XXXVIII, 70, 1948.

ОБ АММИАКЕ КАК ПЕРВИЧНОМ ПРОДУКТЕ ФИКСАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА БАКТЕРИЯМИ

(Обзор)

М. В. Федоров

Довольно широкое распространение в литературе получили теории химизма фиксации молекулярного азота почвенными бактериями, основанные на признании, что в качестве первичного продукта образуется аммиак. В первый раз такое предположение было высказано Виноградским еще в 1894 г. в работе, посвященной выделению первого свободноживущего фиксатора атмосферного азота — Clostridium Pasteurianum. Однако ему не удалось получить определенных доказательств в пользу первичного образования этого соединения в культурах данного организма. В 1922 г. эта точка зрения была распространена Виландом (Wieland, 1922) и на азотобактер. Исходя из представления, что окислительные процессы в клетке обуславливаются активацией водорода окисляемого субстрата, он полагал, что активный водород может вызвать восстановление не только кислорода, но и молекулярного азота. В последнем случае и мог бы получиться аммиак в соответствии со следующим суммарным уравнением:

$$N_2 + 6H \rightarrow 2NH_3.$$

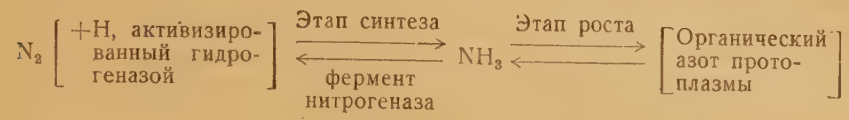
Однако ему не удалось получить прямых доказательств, подтверждающих подобную возможность. Только в 1926 г. С. П. Костычевым были приведены первые более определенные доказательства в пользу первичного образования аммиака (Костычев с сотрудниками, 1926, 1927, 1931). Он обнаружил аммиак в культурах Azotob. agile еще до полного использования энергетического материала и на этом основании принял его в качестве первичного продукта фиксации. По его данным фиксация молекулярного азота должна представлять собой внеклеточную восстановительную реакцию, проходящую следующие этапы:

$$N_2 \left[\begin{array}{l}+\text{ активированный}\\ \text{водород органиче-}\\ \text{ского вещества}\end{array}\right] \underset{N_2\text{-ферменты}}{\overset{\text{и первичные продукты}}{\rightleftarrows}} NH_3 \underset{\text{Дезаминирование}}{\overset{\text{Рост}}{\rightleftarrows}} \left[\begin{array}{l}\text{Азот органи-}\\ \text{ческих веществ}\\ \text{протоплазмы}\end{array}\right]$$

Однако в этой схеме имеется ряд существенных недостатков. Прежде всего неприемлемо положение, что восстановление азота осуществляется за пределами клетки. Для этого процесса нужен активированный водород, а он образуется только при воздействии дегидраз на окисляемое вещество. Если согласиться с Костычевым, то необходимо признать, что активация водорода также осуществляется за пределами клетки, а между тем известно, что дегидразы очень тесно связаны со структурой протоплазмы и прижизненно из клетки не выделяются, поэтому предположение о внеклеточном восстановлении азота должно быть признано лишенным основания.

Более приемлемо локализован процесс фиксации в схеме Виноградского, предложенной им в 1932 г. для культур азотобактера. Кроме правильной локализации процесса, эта схема предусматривает еще и

участие в процессе особого фермента нитрогеназы, активирующего молекулярный азот. Участие этого фермента показано на нижеследующей схеме:



Из этой схемы можно видеть, что синтез аммиака и его дальнейшая ассимиляция не связаны между собой нераздельно. Если по какой-либо причине произойдет задержка в ассимиляции аммиака, то последний должен накапливаться и диффундировать из клеток азотобактера в окружающую среду. В этом случае в питательном субстрате может появиться аммиак и до исчерпания энергетического материала. Однако последняя возможность довольно проблематична, так как рядом исследователей было доказано, что выделение азотистых веществ во внешнюю среду может достигать 25—50% от общего азота в культуре и наряду с аммиаком при этом выделяются и различные органические азотистые соединения. Разнообразие выделяемых азотобактером азотистых соединений очень затрудняет решение вопроса о первичных продуктах фиксации и не позволяет придти к определенному заключению. Тем не менее схема Виноградского во многих отношениях выгодно отличается от схемы Костычева. Прежде всего в ней правильно локализован процесс фиксации в протоплазме клетки, а не за ее пределами. Во-вторых, в ней допускается возможность активации азота при помощи особого фермента нитрогеназы. Правда, этот предполагаемый фермент до настоящего времени не выделен из клеток азотобактера и не охарактеризован несмотря на то, что Бэрк (Burk, 1934) предпринял попытку расшифровать работу этого фермента путем изучения кинетики процесса фиксации при разных условиях культуры азотобактера. На основе этого изучения было сделано заключение, что нитрогеназа катализует процесс, начиная от молекулярного азота и кончая образованием связанных форм азота. При культуре азотобактера на воздухе весь фермент связан с азотом. При понижении давления воздуха до 0,5 атм. часть фермента освобождается от азота, а при давлении, равном 0,2 атм., фермент насыщен азотом только наполовину и скорость фиксации сильно замедляется. Так как в этом случае, по данным Работновой (1941), Eh среды выше, чем при полном насыщении фермента азотом (в атмосфере воздуха Eh соответствует + 196 мв, а при давлении азота в 30 мм — + 85 мв), то имеется основание предполагать, что между окислительно-восстановительным потенциалом среды и состоянием ферментной системы имеется тесная зависимость. Однако все эти данные оказались все же недостаточными, и на их основе не удалось вскрыть конкретный механизм участия нитрогеназы в процессе фиксации. Кроме того оказалось, что ряд фактов противоречит возможному участию этого фермента в процессе фиксации. Главнейшими из них являются следующие.

Молекулярный водород подавляет фиксацию атмосферного азота как клубеньковыми бактериями, так и азотобактером, а между тем он должен был бы стимулировать ее, так как атомы азота легко реагировали бы с молекулами водорода по следующему уравнению:

$$2N + 3H_2 = 2NH_3.$$

Если такая реакция с молекулярным водородом не происходит, то только потому, что молекулы азота, видимо, не подвергаются активации до атомарного состояния. А раз нет их активации, то нет возмож-

ности и утверждать, что имеется фермент, вызывающий эту активацию. В силу этого и реакция между активным водородом, мобилизованным дегидразами из органического вещества, и молекулярным азотом, также становится невозможной из-за недостаточной активности атомного водорода. Проще говоря, вся схема становится нереальной и не может служить достаточной для объяснения механизма процесса. Наконец, если бы нитрогеназа действительно участвовала в процессе фиксации, то в качестве первичного продукта образовался бы аммиак. Однако, как мы уже указывали выше, его первичное образование до сир пор не может считаться строго доказанным. Как известно, Миненкову (1928) и ряду других исследователей не удалось обнаружить образование аммиака в процессе фиксации. Если аммиак и появлялся в культуре, то только после исчерпания энергетического материала, т. е. как вторичный продукт. Этот факт хорошо подтверждается, например, опытами Бэрка с густыми суспензиями Azotob. chroococcum. За 100 часов опыта почти половина всего азота клеток азотобактера перешла в аммиачную форму. Хотя Виноградский и возражал против этих данных, указывая, что в опытах могла быть инфекция посторонними бактериями, однако это возражение не может опровергнуть факта вторичного образования аммиака. В опытах Роберга (Roberg, 1936) за 40—80 дней эксперимента так же более 10% общего азота выделялось в форме аммиака, но так как последний появлялся только после исчерпания энергетического материала, то его образование несомненно было связано с процессами автолиза, а не фиксации. Для того чтобы доказать участие в фиксации фермента нитрогеназы, нужно детально расшифровать первые этапы процесса. Не подлежит сомнению, что разрешение всей проблемы находится в тесной зависимости от расшифровки именно этих этапов. Для этого необходимо или изолировать первичный этап фиксации от дальнейших превращений азота в протоплазме клетки, что возможно только при экспериментах с бесклеточными препаратами азотобактера, или же найти такие приемы блокировки отдельных процессов в клетке, которые позволяли бы контролировать ход каждого из них в отдельности. Хотя первый путь и не дал до сих пор удовлетворительных результатов, однако все исследователи, занимавшиеся этим вопросом, предпочитали пользоваться именно этим путем. В частности, в 1934 г. была предпринята попытка воспроизвести внеклеточную фиксацию азота атмосферы при помощи фильтрованного «сока» азотобактера Бахом, Ермольевой и Степаниан. Они указывают, что на 1 г окисленной глюкозы было фиксировано 276 мг азота, обнаруженного в форме аммиака. Однако простой расчет показывает, что подобная интенсивность фиксации очень мало вероятна. К тому же и экспериментально подобный процесс не удалось воспроизвести другим авторам. Они не могли обнаружить заметной фиксации азота атмосферы выжатым «соком» азотобактера. Даже использование «меченого» азота (N^{15}) не привело к положительным результатам. И при помощи изотопного метода не удалось обнаружить фиксации молекулярного азота «соком» азотобактера.

Против первичного образования аммиака говорят и данные Бурриса (Burris, 1943), изучавшего ассимиляцию N^{15} и его распределение по фракциям в культурах Azotob. vinelandii. Наибольшее накопление изотопного азота (N^{15}) оказалось во фракции аминокислот (аспарагиновая и глутаминовая кислоты), входящих в состав белковых веществ протоплазмы азотобактера. В составе же веществ, выделяющихся за пределы клетки, он полностью отсутствовал.

Однако, несмотря на малую вероятность образования аммиака в качестве первичного продукта фиксации, в 1947 г. были предложены еще две теории, принимающие это вещество за первичный продукт. Первая из них принадлежит Гапону (1947). Этот автор, будучи физико-химиком,

не производил никаких экспериментальных исследований с азотобактером и пытался объяснить сложный физиологический процесс фиксации атмосферного азота бактериями только на основе физико-химических показателей. Физиологический аппарат клеток азотобактера, возникший в результате приспособления организма к условиям его существования, им при этом совершенно игнорировался. Живая клетка уподобляется неорганическому катализатору, к которому подводятся молекулярный азот и молекулярный водород. Каким образом в культурах азотобактера появляется молекулярный водород, автор этой теории не указывает, но раз без него синтез аммиака невозможен из-за трудностей энергетического баланса, то он и принимается им за основу процесса, независимо от того, может или не может он образоваться в культурах этого организма. Ход процесса фиксации по этой теории связан со следующим циклом реакции

1. $Fe^{++} + N_2 + Fe^{++} \rightarrow Fe^{+++}.N:N.Fe^{+++}$
2. $Fe^{+++}.N:N.Fe^{+++} + H_2 \rightarrow Fe^{+++}.NH.NH.Fe^{+++}$
3. $Fe^{+++}.NH.NH.Fe^{+++} + H_2 \rightarrow 2Fe^{+++}.NH_2$
4. $Fe^{+++}.NH_2 + {}^1/_2(H:H) \rightarrow Fe^{++} + NH_3$

В качестве активатора азота здесь принимается геминный фермент, содержащий железо. Для того чтобы обосновать такой путь образования аммиака, Гапону приходится допускать одновременное участие в реакции двух молекул геминного фермента, расположенных на определенном расстоянии друг от друга. В образующуюся при этом межмолекулярную щель и должны загоняться молекулы азота для расщепления. Каким образом в гетерогенной системе протоплазмы азотобактера две молекулы фермента становятся в такую «позицию» и расщепляют молекулы азота, автор этой теории никаких указаний не дает. Легко понять, что при таком ходе процесса фиксация молекулярного азота представляла бы собой чистейшую случайность. А между тем нами давно уже доказано, что азотобактер фиксирует совершенно определенное количество азота атмосферы на каждую килокалорию запаса химической энергии в энергетическом веществе, независимо от того, какова химическая структура используемого органического вещества. Из этого факта с неизбежностью следует, что фиксация молекулярного азота представляет собой не случайный, а строго закономерный процесс, определяющий возможность развития организма в безазотной среде и выработанный им в процессе исторического приспособления к условиям своего существования.

Кроме того, Гапоном принимается, что восстановление азота осуществляется молекулярным водородом, а между тем известно, что молекулярный водород в культурах азотобактера не образуется и не может образоваться, так как при аэробных условиях развития нет недостатка в акцепторах водорода. Таковы общие возражения против этого варианта аммиачной теории. Кроме того, нам удалось получить и экспериментальные данные, противоречащие этой схеме. Многочисленные блокирующие вещества, использованные в наших опытах, оказали совершенно разное воздействие на процессы дыхания и процессы фиксации азота атмосферы азотобактером и тем самым выявили, что эти процессы обслуживаются различными каталитическими агентами. Среди этих веществ особый интерес представляет щавелевая кислота. Как было нами установлено, она подавляет дыхание, не затрагивая азотфиксацию. Резкое подавление дыхания щавелевой кислотой, вероятно, обуславливается тем, что она выводит дыхательный фермент из строя. Но если бы железо участвовало непосредственно в азотфиксации, то при выводе дыхательного фермента из строя должна была бы полностью прекратиться и азотфиксация. А между тем она не только не прекращается,

но идет даже более продуктивно. На основе этих данных приходится признать, что теория Гапона также лишена основания.

Второй вариант аммиачной теории был предложен в 1947 г. Вильсоном и Буррисом (Wilson and Burris, 1947). Эти авторы провели очень детальные исследования процесса азотфиксации при помощи «меченого» азота (N^{15}) и изучили его распределение в составе клеток азотобактера как при питании молекулярным азотом, так и при усвоении аммиака. В обоих случаях основная масса «меченого» азота оказалась в одних и тех же фракциях азотистых веществ протоплазмы клетки (главным образом в составе глютаминовой кислоты), что легко установить из данных нижеследующей таблицы.

Распределение N^{15} в составе азотистых веществ клеток азотобактера при использовании атмосферного азота (по Вильсону и Буррису)

Фракции азотистых веществ протоплазмы азотобактера	Атом—проценты N^{15}		
	15 мин.	30 мин.	90 мин.
Общий гидролизат	1,049	0,174	0,275
Гуминовые вещества	0,683	0,067	—
Фильтрат Нейберга	0,915	—	0,441
Азот амидов	0,981	0,749	0,325
Аргинин	0,667	0,026	0,185
Глютаминовая кислота	2,594	0,392	0,500
Аспарагиновая кислота	0,832	0,187	0,376
Фракция гистидина	0,634	0,034	0,207
Фракция лизина	0,807	0,052	0,356
Нерастворимые в воде медные соли	0,690	0,075	0,313
Растворимые в воде медные соли	0,617	0,039	0,320
Растворимые в воде и в метиловом спирте медные соли	0,782	0,042	0,327
Тирозин	0,758	—	—
Лейцин	0,602	0,068	—

В опытах, продолжавшихся короткое время, N^{15} оказался в одних и тех же фракциях независимо от того, давался ли он в форме N_2 или NH_3. Наибольшее накопление имело место во фракции глютаминовой кислоты (2,594 атом-процента). Так как при тех же условиях опыта содержание атомов N^{15} в общем гидролизате соответствовало только 1,049%, то можно определенно говорить о том, что во фракции глютаминовой кислоты имело место специфическое накопление изотопного азота, а во всех остальных фракциях его распределение мало отличалось от общего гидролизата. В связи с этим возникает естественный вопрос: какая же причина лежит в основе специфического накопления изотопного азота во фракции глютаминовой кислоты? Вильсон и Буррис (1947) объясняют это явление следующим образом: ... «высокое содержание N^{15} в глютаминовой кислоте может быть объяснено простым предположением, что при фиксации азота продукт фиксации передается цепью реакции для образования азотистых соединений в клетке. Например, можно предположить, что действовала следующая схематическая цепь механизма фиксации и ассимиляции азота:

$$N_2 \rightleftarrows 2AN \rightleftarrows 2BN \rightleftarrows 2CN$$

Ближайшая наивысшая концентрация N^{15} (мы говорим здесь все время о концентрации, а не об абсолютном количестве) будет в AN, так как оно расположено ближе всего к источнику N^{15} и все последующие реакции зависят от него. Равным образом BN будет иметь более высокую концентрацию N^{15}, чем CN. Высокая концентрация (процент

атомов N^{15}) указывает на близость в цепи реакции к начальному соединению, обогащенному N^{15}. Постепенная передача азота, несомненно, имеет место в азотобактере и дает нам единственное логическое объяснение наблюдаемой разницы в проценте атомов N^{15} в изолированных соединениях. Поэтому высокий процент атомов N^{15} в глютаминовой кислоте, отмеченный в азотобактере при снабжении его обогащенным N^{15} азотом (N_2) или NH_4^+, указывает на близость глютаминовой кислоты к N_2 (или NH_4^+) в метаболизме азота в азотобактере».

Эти соображения вполне справедливы в отношении места, которое должна занимать глютаминовая кислота в цепи реакций, связанных с превращениями азота, но они ни в коей мере не разъясняют, почему именно глютаминовая кислота занимает первое место в начальной фазе фиксации молекулярного азота. На этот вопрос, который по существу и представляет наибольший интерес для расшифровки механизма фиксации, Вильсон не только не дает ответа, но даже и не ставит его. Такое положение станет понятным из его дальнейшей позиции, которая основывается на представлении, что при фиксации атмосферного азота в качестве первичного продукта образуется аммиак. Исходя из более или менее однотипного распределения изотопного азота в клетках азотобактера при питании аммиаком и молекулярным азотом, он и полагает, что данный факт является косвенным подтверждением фиксации азота через аммиак. А между тем такой вывод вовсе не является не только единственно возможным, но и правильным. В самом деле: почему концентрация изотопного азота в глютаминовой кислоте в первые 15 минут фиксации наиболее высокая? Конечно не потому, что в качестве первичного продукта образуется аммиак. Если бы в качестве первичного продукта образовался аммиак, то он мог бы с таким же успехом, если не бо́льшим, связываться щавелево-уксусной кислотой и превращаться в аспарагиновую кислоту, что обычно и имеет место у большинства растительных организмов при питании аммиаком. Там первое место в связывании аммиака принадлежит аспарагиновой кислоте и образующемуся из нее аспарагину. Здесь же аспарагиновая кислота отходит на второе место, уступая первое место глютаминовой кислоте, которая, повидимому, легче образуется в процессе фиксации, чем аспарагиновая кислота. Анализируя это явление, Вильсон связывает его с предварительным образованием аммиака, хотя для этого нет никаких оснований. Понять специфическое накопление N^{15} во фракции глютаминовой кислоты можно только в том случае, если мы допустим, что в составе фермента, участвующего в азотфиксации, имеется группировка, близкая к глютаминовой кислоте. Наличие такой группировки в его составе и было доказано нами (Федоров, 1949б) при помощи различных блокирующих веществ. Фермент (нитрогеноксидаза) оказался состоящим из двух компонентов (Федоров, 1949а): коллоидного носителя — белка и активной группы следующего строения:

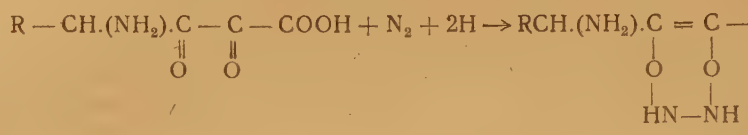
$$-R-CH(NH_2)-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH$$

Так как эта группировка связывается с коллоидным носителем через радикал R, то нами было тогда же высказано предположение, что таким радикалом может явиться вторая карбоксильная группа и это соединение может представлять собой дикетоаминоглютаровую кислоту:

$$COOH.CH(NH_2).\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-COOH$$

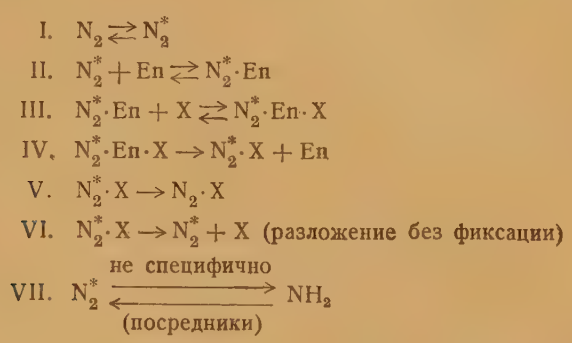
При взаимодействии этой части фермента с молекулярным азотом через кислород карбонильных групп и частичном восстановлении первичного

продукта подвижным водородом будет получаться соединение, богатое азотом:



Это соединение, содержащее молекулу фиксированного азота, и должно иметь в своем составе высокую дозу изотопного азота (N^{15}). При отщеплении от коллоидного носителя оно даст соединение, представляющее собой производное аминоглютаровой кислоты. По ходу реакции в нем должно быть в два раза более высокое содержание изотопного азота, чем в общем гидролизате. Анализы Вильсона и Бурриса показывают, что в аминоглютаровой фракции как раз и содержится в два раза бо́льшая концентрация N^{15}, чем в азоте гидролизата. Из этого факта далее следует, что распределение N^{15} по фракциям в составе клеток азотобактера хорошо подтверждает нашу точку зрения на ход процесса и не подтверждает представления об образовании аммиака в качестве первичного продукта. Если бы аммиак действительно образовался в первой фазе реакции, то никакое специфическое накопление изотопного азота в составе глютаминовой кислоты не должно было бы иметь места. Наибольшее количество его накапливалось бы во фракции аспарагиновой кислоты или же в аспарагине. Однотипное же распределение изотопного азота при питании молекулярным азотом или же аммиаком, обогащенным N^{15}, указывает не на первичное образование аммиака, а на однотипный путь дальнейших превращений азота при синтезе азотобактером белковых веществ. Поэтому из изложенных фактов следует только один вывод: специфическое накопление изотопного азота в первые периоды фиксации во фракции аминоглютаровой (глютаминовой) кислоты указывает на непосредственное участие в процессе фиксации дикетаминоглютаровой кислоты, т. е. подтверждает развитую нами теорию фиксации, подробное изложение которой приводилось в нашей ранее опубликованной работе (Федоров, 1949).

Однако, основываясь на вышеуказанных фактах, Вильсон и Буррис дают следующую схему фиксации молекулярного азота азотобактером:



В этой схеме под N_2 со звездочкой имеется в виду активизированная форма молекулярного азота, адсорбированная на поверхности энзима (En) и там реагирующая с неизвестной молекулой X. Получившееся соединение или деактивируется в стадии V, которая и представляет собой фиксацию, или разлагается без фиксации в стадии VI. Сама же фиксация связана с восстановлением активированного азота водородом до аммиака (стадия VII).

При разборе этой схемы прежде всего следует указать, что основные положения ее, за исключением стадии образования аммиака, были формулированы в наших работах еще в 1944 и в 1945 гг., т. е. на два года раньше Вильсона и Бурриса. На основании изучения влияния поверхностно-активных веществ на дыхание и фиксацию азота атмосферы (1945), нами впервые было экспериментально установлено действительное наличие особого каталитического аппарата, обслуживающего процесс фиксации. На основании данных по угнетающему влиянию спиртов и других наркотиков (1946) на процесс фиксации нами были выяснены даже возможные размеры этой каталитической поверхности. Адсорбция молекулярного азота на поверхности специфического катализатора принимается также и в схеме Вильсона и Бурриса, но без ссылки на наши исследования. Правда, в одном месте своей статьи они пишут: «последнее сообщение Федорова (1946), касающееся действия наркотиков на фиксацию азота, также может быть рассматриваемо как предположение о специфическом торможении». Однако в нашей работе указывалось, что «угнетающее действие наркотиков связано с блокировкой активной поверхности, участвующей в азотфиксации» (Федоров, 1946).

Далее в схеме Вильсона и Бурриса принимается, что адсорбированный азот реагирует с неизвестной молекулой X и, отщепляясь от фермента, фиксируется через стадию аммиака. Однако этот последний этап процесса, представляющий собой основу всей гипотезы, как раз очень мало обоснован. Авторы гипотезы предполагают, что в этой стадии возможны три типа взаимодействия: два восстановительных и один окислительный. При восстановлении имеет место взаимодействие с молекулярным водородом через посредника Ah. Нужный для этого процесса водород получается из субстрата RH_2 в молекулярной форме и гидрогеназой переносится к посреднику Ah. В результате этого процесса получается восстановленный посредник (AhH_2), который реагирует далее с перекисью водорода и образует свободный радикал AhH, содержащий энергию окисления и осуществляющий первую фазу фиксации азота с образованием аммиака. Последовательные этапы этого процесса показаны на нижеследующей схеме:

1. $3RH_2 + 3Ah \rightleftarrows 3AhH_2 + 3R; \quad Bo + O_2 \rightarrow BoO_2$
2. $AhH_2 + BoO_2 \rightarrow \{H_2O_2\} + Ah + Bo$
3. $2AhH_2 + \{H_2O_2\} \rightarrow 2AhH + 2H_2O$
4. $\{N_2\} + 2AhH \rightarrow \{N_2H_2\} + 2Ah$
5. $\{N_2H_2\} + 4AhH \rightarrow 2NH_3 + 4Ah$

При таком ходе реакции для восстановления одной молекулы азота требуется 9 молекул водорода:

1. $N_2 + 9RH_2 + 3O_2 \rightarrow 2NH_3 + 6H_2O + 9R$
2. $N_2 + 7{,}5O_2 + 1^1/_2C_6H_{12}O_6 = 2NH_3 + 6H_2O + CO_2$

В этой схеме основной реакцией является реакция 4, в которой водород от акцептора AhH переходит к молекуле азота и восстанавливает ее до N_2H_2. Для того чтобы такая реакция была возможной, нужно, чтобы азот был активирован до атомарного состояния, так как в молекулярной форме он не может реагировать с активным водородом. Поэтому в предложенном виде эту основную реакцию мы должны считать необоснованной. Энергия активированного водорода будет недостаточной для разрыва связи между атомами азота, так как энергетическая ценность азотной связи значительно выше водородной. А если эта центральная реакция энергетически не оправдана, то и дальнейшие реакции восстановления первичного продукта фиксации до аммиака теряют

свое значение, хотя сами по себе они были бы возможными, если бы образовался этот первичный продукт.

В первом варианте этой схемы принимается, что водород получается за счет дегидрирования органического субстрата, а во втором варианте за счет воды:

$$H_2O + Ah + Bo = AhH + Bo(OH).$$

В этом случае разложение воды должно сопровождаться образованием свободных радикалов [AhH и Bo(OH)], но не исключена возможность, что сначала образуются более устойчивые формы AhH_2 и $Bo(OH)_2$. Такой путь для получения водорода предусматривается авторами с той целью, чтобы подчеркнуть однотипность биохимического механизма, лежащего в основе фотосинтеза и фиксации молекулярного азота, однако пока еще нет никаких оснований для предположения, что биохимический механизм этих процессов один и тот же. Более того, на основе наших исследований следует считать установленным, что этот путь совершенно различный. Каталитический аппарат, участвующий в фиксации азота, в значительной мере уже установлен, но он не может быть привлечен для объяснения фотосинтеза, тем более, что при фотосинтезе имеется внешний источник энергии (солнечная энергия), а в фиксации молекулярного азота такого внешнего источника энергии нет и вопрос об энергии связей и их компенсации остается решающим. Поэтому и второй вариант этой схемы следует считать еще менее обоснованным, чем первый.

В связи с тем, что в процессе фиксации молекулярного азота важнейшее значение имеет энергетический фактор, авторы разбираемой схемы пытаются обосновать ее с термодинамической стороны. Для восстановления азота метаболическим водородом они приводят следующий расчет:

$$0{,}5N_2 + 1{,}5H_2 + H_2O = NH_4^+ + OH^-; \quad \Delta F = 0{,}17 \text{ ккал}$$

Необходимый для этого водород должен получаться из глюкозы по уравнению:

а) $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 12H_2$

б) $4N_2 + 12H_2 + 8H_2O \rightarrow 8NH_4^+ + 8OH^-$

Приведенный расчет показывает, что сама реакция связывания N_2 при помощи молекулярного водорода эндотермична и требует затраты 0,17 ккал на моль аммиака. Эту энергию, конечно, легко получить за счет сжигания дополнительной порции глюкозы, но каким образом она направляется на выполнение основной реакции фиксации, пока остается еще совсем неясным. Если к этому добавить, что и образование молекулярного водорода в культурах азотобактера до сих пор также не доказано, то станет ясным, сколь условны возможности вышеуказанной схемы. Еще труднее обосновать ее за счет водорода воды, так как связь O — H эквивалентна 110 ккал на моль, а для восстановления молекулы азота требуется разорвать шесть таких связей, что отвечает энергетическому запасу одного моля глюкозы. Если идти этим путем, то, как указывают и сами авторы этой схемы, «один грамм глюкозы будет достаточен для реакции приблизительно 8 мг азота». А между тем в реальных условиях опыта азотобактер может фиксировать до 15 мг атмосферного азота, а иногда и больше.

Еще менее приемлем третий вариант схемы — фиксация молекулярного азота путем его окисления до гипонитрита:

$$N_2 + 2Bo(OH) \rightarrow HO.N:N.OH + 2Bo$$

Так как и в этом случае водород должен получаться из воды, то все трудности энергетического порядка остаются в полной силе. Поэтому становится неизбежным признание, что восстановление молекулярного азота водородом субстрата или же водородом воды до аммиака так же, как и окисление его до гипонитрита, не только с энзиматической, но и с энергетической стороны не может считаться обоснованным, тем более, что в обоих случаях допускается еще и участие свободных радикалов, вероятность образования которых оспаривается химиками.

Из изложенного следует, что и эта теория, принимающая аммиак в качестве первичного продукта фиксации, не только не может считаться доказанной, но и не выдерживает критики. Несмотря на это, ряд советских авторов, не разобрав, повидимому, физиологической сущности накопления «меченого» азота во фракции глютаминовой кислоты, пришли к заключению, что данные Вильсона якобы окончательно подтверждают образование аммиака в качестве первичного продукта фиксации атмосферного азота азотобактером. Так, например, Иерусалимский (1949, стр. 58) пишет: «Новейшие данные, полученные методом «меченых атомов», подтвердили правильность предположения, выдвинутого впервые Виноградским в 1893 году и экспериментально обоснованного в дальнейшем работами Костычева и других советских (а также заграничных) исследователей. Одним из промежуточных продуктов азотфиксации, по всей видимости, является действительно NH_3». Мы уже указывали выше, что данные, на которые ссылается Иерусалимский, на самом деле показывают, что аммиак, по всей видимости, как раз не является первичным продуктом фиксации молекулярного азота бактериями.

Еще дальше в этом направлении идут Коникова и Крицман (1951). В недавно опубликованном обзоре они пишут: «Эти исследования (речь идет об исследованиях Вильсона и Бурриса) блестяще подтвердили классические работы С. Н. Виноградского, впервые указавшего, что Clostridium Pasteurianus и ряд других бактерий связывают молекулярный азот и что промежуточным продуктом при восстановлении молекулярного азота является аммиак, который трансформируется в азот белка». Как мы уже указали, эти исследования не дали не только блестящего, но и никакого подтверждения первичного образования аммиака.

Близкие положения развивает в своей статье и Корсакова (1951): «Индивидуальная судьба превращений изотопа азота воздуха N^{15} — пишет она,— была прослежена в процессе усвоения азота. Было установлено, что свободный азот превращается живой клеткой в аммиак, а затем обнаруживается главным образом в виде аспарагиновой и глютаминовой кислот. Эти данные подтверждают схему Костычева о ходе усвоения свободного азота воздуха азотобактером». Читая этот абзац, приходится только удивляться, с какой легкостью Корсакова оперирует данными Вильсона. Она даже считает уже доказанным, что «азот воздуха превращается живой клеткой в аммиак, а затем обнаруживается в виде аспарагиновой и глютаминовой кислоты». Вильсон гораздо осторожнее обращается со своими данными. Он не указывает, что свободный азот сначала превращается в аммиак. Он указывает только, что при питании азотобактера молекулярным азотом, обогащенным N^{15}, или же при его питании аммиаком, содержащим в своем составе N^{15}, наибольшее накопление N^{15} в первые 15 минут опыта обнаруживается в составе глютаминовой кислоты (в два раза больше, чем в общем гидролизате). В аспарагиновой же кислоте хотя и имеет место некоторое накопление избытка N^{15}, однако оно очень небольшое и мало превосходит его содержание в общем гидролизате. Таким образом, речь идет не о накоплении «меченого» азота только в глютаминовой и аспарагиновой кислоте. Он обнаруживается во всех азотистых веществах гидролизата,

но в меньшем количестве атом-процентов, чем в глютаминовой кислоте. На основе этих данных Вильсон делает вывод, что однотипность накопления N^{15} в глютаминовой кислоте при использовании N_2 и NH_3 говорит в пользу образования аммиака в качестве первичного продукта фиксации. Это два разных процесса, и их не следует смешивать. Так якобы доказывают образование аммиака как первичного продукта и при усвоении молекулярного азота. Такое толкование данных Вильсона не только не разъясняет существа явления, но и отвлекает нас от дальнейших исследований в этой области.

Как же, спрашивается, объяснить эти данные Вильсона и Бурриса? Нам кажется, что объяснение возможно только одно: глютаминовая и аспарагиновая кислоты являются важными аминокислотами, участвующими в синтезе белковых веществ и в процессах переаминирования. Поэтому накопление в их составе «меченого» азота при усвоении его из молекулярной формы и из аммиака указывает только на однотипность механизма синтеза белковых веществ в клетках азотобактера, а не на образование аммиака в качестве первичного продукта фиксации. Это два разных процесса, и их не следует смешивать. Так как удвоенное накопление N^{15} во фракции глютаминовой кислоты имеет место только в первые 15 минут использования свободного азота, содержащего N^{15}, а затем, через 90 минут, оно уже сглаживается и приближается к содержанию в других фракциях, то этот факт говорит лишь о том, что аминоглютаровая кислота, повидимому, принимает непосредственное участие в фиксации атмосферного азота.

По нашим данным, как мы уже указывали, аминоглютаровая кислота в форме дикетоаминоглютаровой кислоты действительно должна быть признана выполняющей функции простетической группы азотфиксирующего фермента нитрогеноксидазы. Присоединяя по месту карбонильных кислородов молекулу азота, она может дать производное, содержащее в два раза больше атом-процентов N^{15}, чем в общем гидролизате в первые периоды работы этого фермента. В дальнейшем же, при передаче гидразина другим кетокислотам, эта разница в содержании атом-процентов N^{15} должна сглаживаться, что и имеет место в действительности. Это положение легко и рационально объясняет накопление N^{15} во фракции аминоглютаровой кислоты в удвоенной концентрации. Однако остается непонятным, почему удвоенная концентрация N^{15} обнаруживается во фракции глютаминовой кислоты и при питании азотобактера аммиаком. Если анализы Вильсона и Бурриса вполне точны, то возможно только одно толкование, позволяющее понять физиологический смысл этого явления: следует думать, что при питании аммиаком из глютаминовой кислоты образуется глютамин, в котором действительно будет содержаться повышенная концентрация атом-процента N^{15} по сравнению с общим гидролизатом. Такое образование вполне понятно с физиологической точки зрения, поскольку аммиак является веществом ядовитым и организм обезвреживает его, превращая в соответствующий амид, хотя амид и не должен бы попадать во фракцию глютаминовой кислоты. Животные организмы превращают его в карбамид, растения — в аспарагин и частично в глютамин, а азотобактер, повидимому,— в глютамин и частично в аспарагин. Только при этом допущении можно понять реальный смысл данных Вильсона. При питании же атмосферным азотом удвоенное содержание атом-процента N^{15} связано не с образованием глютамина, в котором нет физиологической необходимости, а с образованием гидразинных производных дикетоаминоглютаровой кислоты.

Следовательно, разобранные выше новые данные не только не доказывают первичного образования аммиака, но служат хорошим подтверждением нашей теории фиксации, связывающей первые этапы процесса с образованием гидразинов. Только приняв эту точку зрения,

можно понять результаты опытов Вильсона и Бурриса с «меченым» азотом. Поэтому мы считаем слишком преждевременным признание аммиака первичным продуктом фиксации, которое с такой легкостью делают Иерусалимский, Корсакова, Коникова и Крицман. Пока еще нет не только надежных доказательств в пользу первичного образования аммиака в процессе фиксации, но, наоборот, имеются вполне надежные данные противоположного характера, показывающие, что аммиак в культурах азотфиксирующих бактерий образуется вторичным путем.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева

Получено 31.I.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бах А. Н., Ермольева З. В. и Степаниан М. Н., Связывание атмосферного азота при обыкновенной температуре и давлении при посредстве энзимов, извлеченных из азотных бактерий. ДАН СССР, 1, 22, 1934.
2. Виноградский С. Н., Об усвоении свободного азота атмосферы микробами. Архив биолог. наук, том 3, стр. 293, 1895.
3. Виноградский С. Н. (Winogradsky S.) Sur la synthèse de l'ammoniaque par les Azotobacters du sol. Ann. Inst. Pasteur, 48, 269, 1932.
4. Виноградский С. Н. (Winogradsky S.) Sur la synthèse enzymatique de l'ammoniac dans le sol. Ann. Inst. Pasteur, 66, 97, 1941.
5. Гапон Е. Н., Теория фиксации азота атмосферы микроорганизмами. ДАН СССР, 58, 249, 1947.
6. Гапон Е. Н., О механизме фиксации азота атмосферы азотобактером. Микробиология, XVI, 204, 1947.
7. Иерусалимский Н. Д., Азотное и витаминное питание микробов. Изд-во АН СССР, М., 1949.
8. Коникова А. С. и Крицман М. Г., Применение метода меченых атомов в микробиологии. Микробиология, том XX, вып. 1, стр. 58, 1951.
9. Корсакова М. П., Академик С. П. Костычев. Микробиология, XX, 179, 1951.
10. Костычев С. П., Рыскальчук А. и Швецова О., Биохимические исследования над Azotob. agile. Тр. отдела с.-х. микробиологии ГИОА, 1, 91, 1925.
11. Костычев О. П. и Швецова О., Азотистая кислота как промежуточный продукт восстановления нитратов азотобактером. Тр. отдела с.-х. микробиологии ГИОА, II, 113, 1927.
12. Костычев С. П. и Шелоумова А. М., Связывание атмосферного азота и образование аммиака Azotobacter. Изв. АН СССР, серия биолог., стр. 662, 1931.
13. Миненков А. Р., Образование аммиака при связывании молекулярного азота микробом Azotob. chroococcum. Изв. с.-х. академии им. К. А. Тимирязева, № 3 стр. 116, 1928.
14. Работнова И. Л., Окислительно-восстановительный потенциал среды в связи с усвоением молекулярного азота. Микробиология, X, 526, 1941.
15. Федоров М. В., Влияние на продуктивность азотфиксации азотобактера поверхностно-активных веществ. Микробиология, XIV, 146, 1945.
16. Федоров М. В., Влияние на фиксацию азота атмосферы азотобактером наркотиков. Микробиология, XV, 23, 1946.
17. Федоров М. В., Двухкомпонентное строение катализатора фиксации азота атмосферы и процесс фиксации молекулярного азота. ДАН СССР, 67, 557, 1949а.
18. Федоров М. В., Теория процесса фиксации молекулярного азота бактериями при участии специфического катализатора. Микробиология, XVIII, 498, 1949б.
19. Burk D. Azotase and nitrogenase in Azotobacter. Ergebn. Enzymforsch., 3, 25, 1934.
20. Burris R., Eppling F., Wahlin H. and Wilson P. Studies of biological nitrogen fixation with isotopic nitrogen. Soil Sci. Am., VII, 258, 1943.
21. Burris R. and Wilson P. Comparison of the metabolism of ammonia and molecular nitrogen in Azotobacter. Biolog. Chem., 165, 595, 1946.
22. Roberg M. Beitrage zur Biologie von Azotobacter. Jahrb. Wiss. Bot., 82, 65, 1935; 83, 567, 1936.
23. Wieland H. Ueber den Verlauf der Oxydationsvorgänge. Ber. Chem. Ges., Bd. 55, S. 3639.
24. Wilson P. and Burris R. The mechanism of biological nitrogen fixation. Bact. Rev., 11, 41, 1947.

ОБ ОДНОЙ НЕИЗВЕСТНОЙ РАБОТЕ Л. С. ЦЕНКОВСКОГО

(К истории микробиологии в России)

Б. Е. Райков

Имя Льва Семеновича Ценковского является гордостью нашей науки. К. А. Тимирязев называет его родоначальником современных русских ботаников [1]. Ценковский — общепризнанный основатель микробиологии в России. Его научная деятельность была посвящена главным образом исследованию низших организмов, пограничных между животными и растениями. В этой области он приобрел мировой авторитет.

Жизнь и деятельность такого крупного ученого должна была особенно интересовать историков отечественного естествознания. И надо сказать, что биография Ценковского до настоящего времени изучена довольно хорошо. Однако в ней имеется крупный пробел — своего рода белое пятно.

Мало освещена важная эпоха жизни Ценковского, когда он, окончив в 1844 г. Петербургский университет, начал делать первые шаги в области изучения простейших организмов. Известно только, что после защиты магистерской диссертации 2 апреля 1846 г. он был оставлен при университете для подготовки к профессорскому званию. Но потом это дело почему-то расстроилось, вопрос о доцентуре Ценковского в университете принял неблагоприятный оборот. Вместо продолжения начатых им научных занятий, Ценковский неожиданно уехал в Северную Африку для участия в экспедиции. Однако эта поездка почти ничего не дала ему для работы по специальности.

Вернувшись в 1848 г. в Петербург, Ценковский не имел уже к университету никакого отношения; он был вынужден довольствоваться случайным заработком и испытывать материальные затруднения. Наконец, он переехал в Ярославль, где ему удалось устроиться в Демидовском лицее. Лишь спустя пять лет он снова вернулся в Петербург и приступил к работе в университете.

Из этого краткого перечня событий видно, что ученая деятельность Ценковского в 1846 или 1847 г. встретилась с какими-то серьезными затруднениями или препятствиями. Что это были за препятствия, доподлинно неизвестно. В литературе можно найти лишь беглые указания, будто бы Ценковский встретил противодействие со стороны своего бывшего учителя — проф. И. И. Шиховского, который заведывал тогда кафедрой ботаники в университете.

Мне удалось найти архивные документы [2], которые вполне разъясняют этот печальный эпизод научной жизни Ценковского. Документы не только дополняют весьма существенными чертами биографию Ценковского, но дают материал для истории протистологии в России — на самой ранней стадии ее развития. Они свидетельствуют о нижеследующем.

По защите магистерской диссертации — «Несколько фактов из истории развития хвойных растений» — Ценковский был оставлен в универ-

[1] Тимирязев К. А. Развитие естествознания в России в эпоху 60-х годов. М., 1920, стр. 32.

[2] В Ленинградском Областном архиве, где хранятся дела Ленинградского университета. Год 1845. Дело 14.1.4750.70. № 22.

ситете для подготовки к степени доктора[3] и стал усердно заниматься простейшими организмами. В 1847 г. он обратился в факультет с просьбой о разрешении ему читать лекции на правах приват-доцента. По правилам он должен был представить для этого ученую работу pro venia legendi (для получения права чтения лекций). Он и представил таковую работу — под названием: «О строении простейших животных организмов» объемом около печатного листа, с 11 рисунками на отдельных таблицах.

Факультет передал работу Ценковского на отзыв профессорам — Шиховскому, который заведывал кафедрой ботаники, и Куторге, который заведывал кафедрой зоологии. Однако ученые рецензенты дали об этой работе Ценковского отрицательный отзыв. Мотивировка была краткая и очень неопределенная: работа «является недостаточной для звания приват-доцента по причине поспешности, с которой она написана».

После такого отзыва факультет постановил отказать Ценковскому в его просьбе. 18 октября 1847 г. декан факультета физик Ленц распорядился вернуть работу Ценковскому. Но оказалось, что молодого ученого уже в городе не было. Узнав об отказе факультета, он оставил свою научную работу и решил уехать из Петербурга. Он принял случайное предложение: отправиться в Северную Африку на два года в качестве натуралиста экспедиции, которую русское правительство снарядило для отыскания золотых россыпей близ истоков Белого Нила. Принять участие в этом предприятии, которое оказалось безрезультатным, можно было только с отчаяния, тем более, что Ценковский флористикой никогда не занимался и его научные интересы были далеки от изучения растительности Судана. Обладая слабым здоровьем, он плохо переносил трудности путешествия по диким странам, тяжело заболел в этой экспедиции малярией и в конце-концов так ослабел, что его приходилось привязывать в пути к верблюду.

Представленная Ценковским работа осталась, по счастью, в делах факультета, где и удалось ее обнаружить и снять с нее точную копию. Теперь мы можем судить, насколько правы были рецензенты, так сурово ее оценившие.

Работа Ценковского представляет собой очень убедительную критику взглядов немецкого ученого Эренберга, критику, основанную на собственных наблюдениях русского автора.

В 30—40-х годах прошлого века Эренберг считался величайшим авторитетом в науке о мельчайших организмах и в особенности в области исследования инфузорий или наливочных животных, как их тогда называли. В 1838 г. он напечатал большой труд in folio с великолепно исполненным атласом на 64 таблицах под названием: «Die Infusorienthierchen als vollkommene Organismen» (Лейпциг, 1838). Это сочинение было настольной книгой всех зоологов того времени. Основная идея Эренберга, которая отражена даже в заглавии его труда, заключалась в том, что инфузории — «совершенные организмы», т. е. имеют такое же сложное и совершенное устройство, как и высшие животные, но только в очень малых размерах. Толкуя по-своему различные детали строения простейших, Эренберг находил у них нервы, мускулы, кровеносные сосуды, половые органы и т. д. Ядра инфузорий он принимал за семенники, сократительные вакуоли — за семенные пузырьки, различные включения — за яйца, вакуоли — за настоящие желудки и т. д.

Современная протистология, в особенности ленинградская школа В. А. Догеля, показала, что строение простейших гораздо сложнее, чем его представляли в начале нашего века. Простейших нельзя уже рассматривать как простые комочки живого вещества с ядром, лишенные всяких дифференцированных частей. Наибольшей высоты органи-

[3] С окладом 300 руб. в год.

зации достигают описанные Догелем и его учениками инфузории из желудка копытных. Но отсюда, разумеется, очень далеко до взгляда Эренберга, который представлял себе дело так, что инфузории являются настоящими миниатюрными копиями высших животных. Если некоторых органов, свойственных высшим организмам, у них нехватало, то по мнению Эренберга, это объясняется несовершенством наших оптических средств.

У Эренберга нашлось множество последователей, которые сделали из его учения выводы явно реакционного порядка. Говорили, например, что сложность и совершенство строения простейших прямо доказывает, что никакого исторического прогресса в мире животных не существует. Поэтому эволюционисты совершенно-де напрасно толкуют об усложнении жизни на земле, о происхождении высших от низших и т. д.

За эту мысль охотно ухватились и наши русские реакционеры. Так, например, известный в свое время журналист Сенковский, редактор «Библиотеки для чтения», учинив грубый разнос эволюционисту Горянинову, аргументировал доводами, взятыми именно из Эренберга: «Эренберг считает себя вправе утверждать,— так писал Сенковский в 1838 г.,— что в числе всех нынешних классов животного царства нет ни одного, которое можно было бы почитать за менее организованное, нежели прочие. Он думает и убедился, что одинаковый план организации господствует во всех созданиях всевышнего — самых высших и самых низших, или правильнее — самых огромных и самых мелких» [4].

Проводником взглядов Эренберга в университете являлся Куторга. Он в течение тридцати лет (1833—1861) возглавлял в Петербургском университете кафедру зоологии и пользовался большим влиянием. Это был блестящий лектор, талантливый преподаватель, очень разносторонний человек. Кроме зоологии, он занимался палеонтологией и геологией. Его лекции привлекали студентов с других факультетов, и он многих натолкнул на научный путь, в том числе и самого Ценковского. Ценковский поступил сначала на математическое отделение, но случайно прослушанная им лекция проф. Куторги настолько увлекла его, что он перешел на естественное отделение. То же произошло с известным впоследствии педагогом Гердом, который вначале поступил на факультет восточных языков. Аналогичную роль Куторга сыграл в жизни А. О. Ковалевского, Кесслера и, вероятно, многих других. Таким образом, никак нельзя отрицать известных заслуг Куторги перед русской наукой. К сожалению, курс зоологии, который он читал в университете, не отличался новизной взглядов. В течение многих лет он читал зоологию по переводному немецкому учебнику Вигмана и Руте, проводившему взгляды Кювье. Куторга не был сторонником идеи исторического развития в природе. Больше того, в 1839 г. он даже напечатал на немецком языке книжку, где резко выступил против эволюционных воззрений. Когда появился знаменитый труд Эренберга, Куторга безоговорочно присоединился к его взглядам. Через год, в 1839 г., он сам напечатал на русском языке большую книгу с атласом рисунков, которую назвал «Естественная история наливочных животных» [5]. Это сочинение всецело основано на данных Эренберга, причем Куторга поддерживает все выводы немецкого автора. Он утверждает, что повторил большинство исследований Эренберга при помощи хорошего микроскопа Плесля и убедился в их правильности.

В приложенном атласе рисунков, составленном Куторгой, читатель мог видеть изображения евглен, ядра которых обозначены как «семен-

---

[4] «Библиотека для чтения», т. 27, 1838, стр. 33.

[5] Куторга С. Естественная история наливочных животных. С атласом. СПб., 1839, 162 стр. 8°. Эта книга была напечатана также в переводе на немецкий язык: «Naturgeschichte der Infusorienthierchen», 1841.

ники». Зеленые крупинки в теле трубача или стентора (Stentor polymorphus) Куторга принимал за яйца (табл. III, рис. 16). На самом деле, это зоохлореллы — одноклеточные водоросли, живущие в симбиозе с простейшими. Куторга даже изобразил на рисунке (табл. III, рис. 3), как инфузория кольпода (Colpoda) откладывает яйца. Следуя за Эренбергом, он причисляет к инфузориям также коловраток и мелких нематод (так называемую уксусную угрицу).

Всячески расхваливая Эренберга, Куторга старался опорочить возражения его противников. В особенности он критикует наблюдения французского зоолога Дюжардена, который показал, что у корненожек в теле нет никаких специальных органов в смысле Эренберга. Куторга же считал более правильным отнести раковинных корненожек (Foraminifera) к мелким формам головоногих моллюсков.

Другая идея, против которой особенно резко восстал Куторга в своей книге,— это мысль о существовании простейших организмов — средних между животными и растениями, которые как бы связывают оба царства природы. Он называет эту идею несбыточной мечтой, фантазией и т. д. «Существование этих межеумков,— пишет он, например,— до такой степени невозможно, что для них даже нельзя найти места в ряду прочих органических существ» [6].

Таковы были научные воззрения первого рецензента Ценковского — Куторги.

Надо сказать несколько слов и о втором рецензенте Ценковского — профессоре ботаники Шиховском. Тимирязев в своей известной книжке называет его «почтенным представителем узкосистематического направления», «отставшим от современного положения науки» [7]. Бекетов характеризует его еще более жестко. Шиховский был, несомненно, предан науке, он трогательно любил ботанику. Однако мы напрасно стали бы искать у него сочувствия тем передовым взглядам на низшие организмы, с которыми выступил Ценковский.

Таковы были рецензенты диссертации молодого ученого, от которых зависело, открыть ли ему дорогу на кафедру.

Обратимся теперь к содержанию работы Ценковского, представленной им факультету в 1847 г.

С первых же строк Ценковский аттестует себя как противник взглядов Эренберга и его последователей: «Еще недавно,— пишет Ценковский,— господствующим мнением естествоиспытателей было отыскание сложного строения в низших организмах. Изучение совершенных животных сделало натуралистов поневоле поэтами. Мнение, что животное и растение в самом простом виде представляет одну только клеточку, без всяких органов, казалось слишком простым, слишком недостойным жизненной силы... Красная точка, светлая линия, прозрачный кружок, волоски, бородавки — получали фантастическое значение: глаз, нервов, семенных железок, тычинок, пестиков. Если к несчастью самое пылкое воображение не могло открыть кровеносной системы, нервов, яиц и проч., все тогда сваливалось на недостаток оптических средств, наконец, на слитие всех систем.

«Ботаники прежде зоологов оставили фантазию. История развития показала верный путь; изучение развития клеточки в сложных растениях доказало, что и в самом простом случае мы имеем дело с тою же самою клеточкою. Теперь никто уже не ищет корней, сосудов, тычинок в шариках Protococcus, Palmella, Mycoderma.

«Зибольд, Келликер, Дюжарден положительными наблюдениями показали существование животных, состоящих из одной клеточки.

---

[6] Куторга С. История наливочных животных, стр. 40.

[7] Тимирязев К. А. Развитие естествознания в России в эпоху 60-х годов, М., 1920, стр. 31.

«Мои собственные наблюдения, над так называемыми многожелудочными инфузориями, привели меня к следующим результатам:

1) Семейства: евглен, амёб, энхелид представляют животных, состоящих из одной только клеточки. Мускулов, желудочков, нервов, глаз, семенных железок — нет.

2) Амёбы, энхелиды, кероны представляют животных, не только состоящих из одной клеточки, но даже и без наружной оболочки.

3) Размножение простых животных организмов происходит так же, как и размножение обыкновенной клеточки, т. е. делением и средоростным развитием (эндогенное развитие)».

Для доказательства этих положений Ценковский приводит свои собственные наблюдения над евгленами, амёбами и другими простейшими. Приведем выдержки из его описания евглены — простейшего животного из класса жгутиковых, которое постоянно встречается в прудах и лужах: «К числу микроскопических организмов, окрашивающих стоячие воды в зеленый и красный цвет, принадлежат евглены. Они представляют веретенообразные тела, величиною от $^1/_{90}$ до $^1/_{10}$ линии [8]. Передний конец округлен, часто со складкою, задний — заострен и вытянут в более или менее длинный хвост. Оболочка, окружающая животное, ясно видна. Через нее просвечивают зеленые или красноватые крупинки. Посредине животного заметен светлый кружок, около него окрашенная масса гуще, к обоим концам светлее. На тупом конце находитоя пятно карминного цвета (глаз), окруженное светлою площадкой. Поверхность в некоторых видах на краях представляет спиральные бороздки.

«Движения этих животных чрезвычайно замечательны. Они бывают двух родов: движения быстрые, поступательные, несопровождаемые переменою формы тела, и — медленные, причем животное сжимается и растягивается различнейшим образом. В последнем случае евглены представляют зеленые или красные шары, и многими ботаниками были принимаемы за растения. В таком виде животное бывает тогда, когда оно отжило свой век, или намерено произвести себе подобных. Наблюдая внимательно плавающую евглену и переменяя различнейшим образом освещение в микроскопе, удается видеть на переднем конце тончайшую длинную ресничку, которая подымается прямо и потом, дрожа, изгибается то направо, то налево, управляя таким образом движением животных.

«Все внимание я обратил на внутренность описываемых мною животных. При сдавливании евглены между двумя стеклышками, удобно выскакивает вся внутренность. При слабом сжимании полость, окружающая глаз, и срединная светлая площадка делаются прозрачнее. Сдавливая постепенно сильнее, видим, что оболочка лопается и вся внутренность выступает. Оставшаяся оболочка — совершенно гладкая, спиральные бороздки исчезли, они представляли, следовательно, только складки. Все находящееся внутри состоит из слизи и зеленоватых, красных и бесцветных шариков. Срединная светлая площадка представляет здесь тело круглое или овальное с довольно резким контуром и одною или несколькими крупинками внутри. Иод, азотная кислота не переменяют его цвета. При самом тщательном изучении, при самых сильных увеличениях, кроме оболочки, срединного ядра и окрашенных крупинок ничего не видно. Перед нами животное — клеточка со своим ядром, клеточка, которая по произволу может стягиваться и расширяться, не нуждаясь для этого в мускулах.

«Размножение евглен я наблюдал у зеленой евглены. Оно происходит следующим образом. Животное перестает двигаться, принимает форму шара; густая масса, окружающая ядро, распадается на две куч-

[8] Русская мера — линия равна 2,5 мм. Следовательно, Ценковский дает для евглен размеры от 0,025 до 0,25 мм.

ки, между которыми появляется светлая линия; эта линия становится резче к краям клеточки, разделяется на две, и следовательно, состоит из двух столкнувшихся стенок — мы имеем две клеточки, заключенные еще в маточной клеточке. Этот период очень непродолжителен. В каждой клеточке развивается красное пятно, маточная ячейка исчезает и две евглены касаются еще друг друга, наконец, разделяются совершенно».

Это описание весьма замечательно для своего времени по точности и тонкости наблюдений. Напрасно мы стали бы искать у современников Ценковского чего-либо подобного.

Ценковский подметил то, что другие наблюдатели до него не отмечали: например, он обнаружил, что у евглены помимо быстрого поступательного движения, имеется еще и другое — медленное червеобразное движение, причем тело сокращается и вытягивается.

Вероятно, до Ценковского никто так хорошо не ориентировался в процессах размножения простейших. Он описывает для евглены и для другого организма — из равноресничных инфузорий (Enchelus),— кроме обычного способа размножения путем продольного деления, еще размножение при помощи так называемых цист размножения. Этот способ размножения внутри цист Ценковский даже называет особым термином — «средоростное размножение», а цисту именует «маточной клеточкой».

Из краткого упоминания о методике исследования видно, что наш ученый проводил различные эксперименты над простейшими: сдавливал их между стеклами, действовал на них химическими реактивами и т. д.

Приведем еще одно место, где Ценковский описывает свои наблюдения над движением амебы.

В сосуде с водой, где он все лето держал нитчатые водоросли, развелось множество амеб: «Мне попадались две формы,— пишет Ценковский,— одна во время движения представляла лучистый вид, вторая, меньше предыдущей, имела яйцевидное очертание с одним концом, сильно суженным. В обоих случаях животное представляло совершенно прозрачную, маслообразную слизь, контур — не резкий, совершенно похожий на очертание капли масла; внутри животного — то же самое вещество с темными крупинками, часто перемешанными с бациллярнями, монадами и проч. Движения их чрезвычайно любопытны. Животное в любой точке поверхности выпускает отросток, в нем переливаются темные крупинки, отросток расширяется и за ним тянется остальная часть животного. Часто животное выпускает вдруг несколько лучей, и они всегда появляются на неопределенных местах. Таким образом, животное переходит с места на место. При одном взгляде на амебу уже видно, что окружающей оболочки нет».

Некоторые описания Ценковского, сделанные сто лет назад, с небольшими поправками могли бы войти в современный учебник зоологии.

Остается добавить, что к рукописи, как видно из ее содержания, было приложено 13 рисунков с изображением объектов, описанных в тексте. Первые пять рисунков относились к евглене, рисунки 6—11 — к Enchelus, Kerona и родственным формам и рисунки 12 и 13 — изображали амеб. Крайне жаль, что эти рисунки до нас не дошли: при рукописи их не оказалось. Можно предположить, что они остались у одного из рецензентов.

Рукопись Ценковского заканчивается следующими кратко формулированными положениями.

«1. Клеточка может существовать без окружающей ее перепонки.

2. Многожелудочные инфузории вовсе не имеют такой сложной организации, как полагает Эренберг. Напротив того, бо́льшая часть из них представляет организмы, состоящие из одной только клеточки.

3. Животные, состоящие из одной клеточки и при том без окружающей перепонки, существуют».

Легко себе представить, какое впечатление произвела диссертация Ценковского на его ученых рецензентов, особенно на Куторгу, который всего лишь за несколько лет перед тем утверждал в печати прямо противоположное. Провал диссертации Ценковского был, таким образом обеспечен [9]. Очень характерно, однако, что рецензенты не сочли удобным давать подробный разбор работы Ценковского и опровергать его положения, а ограничились лишь неопределенной фразой, что работа сделана слишком «поспешно».

Отсталая наука прошлого столкнулась с новым, молодым, прогрессивным течением и пыталась подавить его.

Приведенные нами данные показывают, что диссертация Ценковского, представленная им в 1847 г. в Петербургский университет и по стечению обстоятельств не увидавшая света, представляет собой первое на русском языке правильное описание строения и жизни простейших и сопровождается важными выводами общебиологического значения.

Таким образом, вновь найденная рукопись имеет немаловажное историческое значение.

Получено 22.II.1952 г.

---

[9] Куторга и позднее резко восставал против взглядов Ценковского, Б. Л. Исаченко в очерке по истории микробиологии в России (Известия АН СССР. Отд. биол. наук, 1945, № 2) пишет, что Ценковскому пришлось выдержать «яростные нападки» со стороны Куторги и некоторых других тогдашних ученых.

РЕФЕРАТЫ

Zelitch I., Rosenblum E. D., Burris R. H., Wilson D. W. **Isolation of the key intermediate in biological nitrogen fixation by Clostridium. (Обнаружение основного промежуточного продукта в биологической фиксации азота у Clostridium).** Journ. of Biol. Chem., v. 191, pp. 295—298, 1951.

Обнаружено, что Clostridium Pasteurianum выделяет около 50% фиксированного азота в среду.

Для более детального изучения указанного явления культуры Cl. Pasteurianum выращивались анаэробно в 4 л среды, через которую продувался азот. На стадии логарифмического роста вместо азота в течение 45 минут продувалась газовая смесь, содержавшая N_2, N_2^{15} и гелий.

Затем культура центрифугировалась, жидкость подкислялась и в 1 л ее определялось содержание N^{15} в различных фракциях азотсодержащих веществ. Кроме того, определялось содержание N^{15} в белках бактериальных тел.

Опыты показали, что азотные соединения, выделяемые в среду молодой культурой Cl. Pasteurianum, не являются продуктами распада белков клеточных тел бактерий, так как белки бактериальных тел содержали 0,328 атом-% N^{15}, тогда как в азотных соединениях, выделяемых в среду,— 1,049 атом-% N^{15}. Меченый азот сконцентрировался в аммонийном азоте (14,03% атом-%).

Авторы заключают, что аммиак является основным промежуточным продуктом азотфиксации у Cl. Pasteurianum.

Ю. Сорокин

Hvid-Hansen N. **Anaerobic actinomyces (Actinomyces israeli) in groundwater. (Анаэробный актиномицет, Actinomyces israeli, в грунтовой воде).** Acta pathol. et microbiol. Scandinav., v. 29, pp. 335—338, 1951.

Автором выделен и описан анаэробный актиномицет (Actinomyces israeli) из грунтовой воды, содержащей H_2S. Было изучено шесть штаммов на печеночной и сложной синтетической средах, жидких и агаризованных. Организм — абсолютный анаэроб с оптимумом роста 37°, восстанавливает метиленовую синь, разжижает желатину, свертывает молоко, некоторые штаммы образуют H_2S, сульфиты и сульфаты не восстанавливает, нитраты восстанавливает до нитритов и иногда до аммиака. Образует винную, молочную, муравьиную и пропионовую кислоты, непатогенен для мышей, морских свинок и кроликов. Так как актиномицет живет в грунтовых водах песчаных и известковых слоев, бедных органическими веществами, но не является автотрофом, автор предполагает тесный симбиоз между ним и живущей в этих же условиях сульфатвосстанавливающей бактерией Desulphoristella hydrocarbonoblastica, которая поставляет органические вещества для актиномицета.

А. Космачев

Farrer K. **The liberation of pantothenic acid from autolysing yeast cells. (Выделение пантотеновой кислоты из автолизирующихся дрожжевых клеток).** Austral. Journ. Exper. Biol. and Med. Sci., v. 29, pp. 285—288, 1951.

Ранее автор установил, что в течение трех часов автолизирующиеся дрожжевые клетки полностью выделяют в среду рибофлавин, аневрин и никотиновую кислоту.

В настоящей работе изучалось выделение пантотеновой кислоты пивными дрожжами, автолизирующимися при 50—52°.

Пантотеновая кислота определялась микробиологическим способом при помощи Lactobacillus arabinosus 17/5 — организма, чувствительного только к свободной пантотеновой кислоте. В начале автолиза (около одного часа) выделение пантотеновой кислоты совпадает с выделением рибофлавина, аневрина и никотиновой кислоты, в дальнейшем же выделение ее замедляется и не заканчивается полностью даже через 45 часов

Автор предполагает, что в начальной стадии автолиза выделяется свободная пантотеновая кислота, после чего происходит медленное освобождение ее в результате энзиматических процессов из остатков коэнзима А.

А. Космачев

Korinek Y. **The medicinal mud of Piešťany. (Медицинская грязь Piešťany).** Bulletin international de l'Académie tchèque des Sciences, 1950. Extraits du texte tchèque publié dans la revue Rozpravy 11 tridy Ceské akademie LI-e Année, Numéro 3.

Автор статьи исследовал медицинскую грязь известного курорта Piešťany. Первичным материалом для образования грязи служат отложения слепого рукава реки Váh, представляющие собой в основном вымытую в реку дождями почву. Процесс «созревания» грязи проходит в две стадии. Сначала, еще в канале реки, желто-серая от большого содержания Fe_2O_3 грязь подвергается воздействию горячей воды при 67°. Затем эта наполовину созревшая грязь собирается в металлические резервуары и погружается в воду при 40—50°. При этом в грязи в результате воздействия горячей воды, с одной стороны, и действия H_2S, содержащегося в воде, с другой,— происходит ряд изменений, выражающихся в почернении ее (образование FeS), частичной стерилизации и в других процессах. Грязь имеет слабокислую реакцию (6—6,2), содержит 4,44% органического вещества и находится в коллоидальном состоянии. Вследствие исчезновения азотистых веществ перестают развиваться полинитрофилы, в том числе и патогенные полинитрофилы.

Развиваются обильно олигонитрофилы Agrobacterium radiobacter, Agr. tumefaciens и род Rhizobium. Особенно обильно развивается в грязи Piešťany Agr. radiobacter, образующий большое количество слизи, которая действует цементирующим образом на частицы грязи. Agr. radiobacter развивается на средах, содержащих 2% сахарозы и только 0,005% азота. На поверхности Oscillatoria Agr. radiobacter образует симбиотическую форму, названную B. cyanicola.

При наличии в грязи анаэробных условий в ней ярко выражены процессы денитрификации и десульфуризации. Особенно широко распространена десульфуризация. Сероводород вносится в грязь с горячей водой, а источником углерода и кислорода может служить CO_2, образующаяся в грязи в результате разложения органических материалов. Превращение серы является одним из важнейших процессов, протекающих в грязи Piešťany. H_2S экзотермически окисляется в серу, которая в свою очередь экзотермически окисляется до SO_4. Сульфаты эндотермически восстанавливаются до H_2S.

$$H_2S \leftarrow (c) \leftarrow \begin{matrix} S \\ \nearrow \quad \searrow \\ SO_4 \end{matrix}$$

Так как наиболее эффективным фактором медицинской грязи Piešťany являются H_2S и элементарная сера, производились попытки усилить десульфуризацию добавлением в грязь энергетического материала в виде сульфитных щелоков, отбросов целлюлозных фабрик и других. Однако попытки эти не увенчались успехом.

Л. Осницкая

Kornberg A., Pricer W. E. **Di- and triphosphopyridine nucleotide isocitric dehydrogenases in yeast. (Ди- и трифосфопиридиннуклеотиды дегидрогеназ изолимонной кислоты в дрожжах).** J. Biol. Chem., v. 189, pp. 123—136, 1951.

Авторы изучали биологическое превращение *d*-изолимонной кислоты в кетоглютаровую у ряда производственных рас пекарских и пивных дрожжей. Установлено наличие двух различных энзиматических систем, катализирующих дегидрирование изолимонной кислоты.

Одна система — система трифосфопиридиннуклеотида (TPN) является аналогичной уже ранее известной системе из животных тканей.

Переход изолимонной кислоты в кетоглютаровую в этом случае происходит следующим путем:

1) *d*-изолимонная кислота + TPN $\rightleftarrows$ щавелевоянтарная к-та + $TPNH_2$
2) щавелевоянтарная к-та $\rightleftarrows$ кетоглютаровая к-та + CO_2
3) *d*-изолимонная к-та $\rightleftarrows$ кетоглютаровая к-та + $TPNH_2$ + CO_2.

Другая система — система дифосфопиридиннуклеотида (DPN). Механизм превращения изолимонной кислоты в кетоглютаровую системой DPN совершенно отличен от механизма системы TPN. В системе DPN щавелевоянтарная кислота ни декарбоксилируется, ни восстанавливается, а следовательно, не является промежуточным продуктов реакции.

Для работы системы DPN обязательно необходим аденозин-5-фосфат, при отсутствии которого дегидрирование изолимонной кислоты почти не идет. Удовлетворительная схема, объясняющая действие системы DPN, пока неизвестна.

Ю. Карасевич

Schoon J., Massart L. **L'Influence des sels de Thorium sur la respiration des levures de boulangerie. (Действие солей тория на дыхание пекарских дрожжей).** Bull. Société Chim. Biol., v. XXXIII, pp. 508—513, 1951.

Изучалось действие тория на дыхание пекарских дрожжей (методом Варбурга). Торий вносился в среду в виде нитрата.

Установлено, что в отсутствие фосфата дыхание тормозится при концентрации Th^{4+} — 1.10^{-4} — 5.10^{-5} М. При более низких концентрациях тория первое время наблюдается активация, а затем подавление дыхания. При наличии в среде фосфатов торможение менее выражено, так как фосфаты образуют с торием комплексные соединения.

Клетки дрожжей, обработанные торием, восстанавливают способность к дыханию после промывания раствором фосфата, цитрата или бикарбоната.

Авторы считают, что ионы тория располагаются на поверхности клетки, блокируя некоторые простетические группы ферментов, содержащих фосфаты. Это предположение подтверждается отсутствием действия тория на внутриклеточное дыхание.

Ю. Карасевич

Zubal B. **Einfluss von Säure- und Alkaliwirkung auf die Färbung der Bakteriensporen. (Влияние воздействия кислотами и щелочами на окраску бактериальных спор).** Ztbl. f. Bakt., I, Bd. 157, S. 521—522, 1952.

Благодаря комбинированному воздействию щелочами и кислотами в процессе окраски, автором получены хорошие результаты при окраске бактериальных спор.

Высушенный на покровном стекле препарат обрабатывается 35%-ным формалином 3—5 мин., затем промывается водой и 3 раза кипятится с 1%-ным щелочным раствором фуксина, с которым оставляется еще на 10 мин.

(Приготовление щелочного раствора фуксина: 0,9$_2$ Na_2CO_3 $10H_2O$ в 90 мл смешивается с 10 мл спиртового раствора фуксина, смесь сохраняется только 1,5—2 часа).

Препарат промывается водой и обесцвечивается 3%-ным солянокислым спиртом 10—15 сек., еще раз промывается и дополнительно окрашивается разбавленной метиленовой синью. Так как споры при этом не обесцвечиваются, получается ясный препарат с красными спорами и голубой плазмой.

А. Космачев

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Б. Л. Исаченко. **Избранные труды.** Том 1, АН СССР, М.—Л., 1951, 409 стр.

Выход в свет «Избранных трудов» Б. Л. Исаченко с удовлетворением встречен не только микробиологами, но и широкой научной общественностью нашей страны. Исаченко — один из тех ученых, работы которых по своему значению далеко выходят за пределы только одной отрасли науки: они имеют отношение к различным разделам естествознания. Крупнейший представитель общей микробиологии, Исаченко оставил большое и ценное научное наследие, охватывающее микологию и альгологию, физиологию растений и фитопатологию, гидробиологию и семеноводство. Мимо его трудов не могут пройти ни почвовед, ни геохимик, ни геолог, ни океанолог, ни бальнеолог.

Первый том «Избранных трудов» содержит 28 работ, относящихся к периоду деятельности Исаченко с 1895 по 1948 г. Сюда вошли исследования по микробиологии морей, в частности большая монография «Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана», ряд статей о бактериальном свечении, об условиях образования хлорофилла и другие.

Еще будучи студентом Петербургского университета, Исаченко выполнил работу «К гистологии Pholiota campestris Fr.». Этой первой его печатной работой и начинаются «Избранные труды». В результате тщательно проведенного цитологического и гистологического изучения автор пришел к заключению, что и в клетках плодового тела гриба и в его спорах имеет место непрямое деление ядра. Так называемые «микрозомы», привлекавшие в то время внимание исследователей, оказались шариками жира или белковыми телами, кристаллическими и некристаллическими.

Интерес к цитологии организмов проявился и в других работах Исаченко. Так, он и его ученик Гиляровский указали на содержание волютина в клетках азотобактера (стр. 89), тогда как Празмовский это отрицал.

В накопительных культурах сульфатвосстанавливающих бактерий Исаченко обнаружил подвижные палочки, иногда совершенно черного цвета (стр. 84). Оказалось, что сернистое железо не только покрывало снаружи оболочку клеток, но и находилось внутри их в виде отдельных черных крупинок или даже значительных отложений. Таким бактериям, впервые им описанным в 1912 г., Исаченко позднее (1927) приписывал определенную роль в создании структуры черного ила (лечебной грязи) в соляных водоемах.

В результате тонких цитологических наблюдений Исаченко удалось проследить за образованием кристаллов пирита внутри клеток некоторых бактерий (стр. 87). Эта работа (1929) представляет большой интерес для понимания геологической деятельности микроорганизмов, освещая вопрос о микробиогенном происхождении пирита в донных отложениях морей и соляных озер.

Ученый с широким биологическим кругозором, Исаченко давно интересовался хлорофиллом, особенно условиями его образования. В течение 1906—1909 гг. им было опубликовано по этому вопросу четыре сообщения (в «Избранных трудах» помещены только первое и третье сообщения). Четко поставленными опытами Исаченко показал, что для образования хлорофилла (в листьях Vicia faba) нет надобности в присутствии сахара. Достаточно вынести на свет этиолированные листья этого растения, помещенные в прокипяченную водопроводную воду, чтобы уже через 24 часа обнаружить при помощи спектрального анализа появление хлорофилла.

Если наличие сахара оказалось необязательным для образования хлорофилла, то, с другой стороны, высокие концентрации (35—50%) сахарозы не приостанавливали этот процесс (опыты с Vicia faba и водорослью Stichococcus bacillaris).

Большой общебиологический интерес представляют исследования Исаченко, установившие, что хлорофилл может образоваться при низких температурах (стр. 51). В растениях, предварительно выдержанных в темноте (пшеница, овес, рожь, горох, вика, подсолнечник, люпин) и подвергнутых действию температуры ниже 0° (от —1° до —8°), уже после 5—15 минутного освещения обнаруживался хлорофилл. Даже когда растения (ростки) совершенно замерзали, можно было, после краткой экспозиции на свету, выявить в спиртовой вытяжке характерные линии спектра хлорофилла. Эти данные Исаченко заслуживают тем большего внимания, что они шли вразрез с мнением иностранных авторитетов (Сакс, Визнер, Эльфинг), утверждавших, что хлорофилл образуется только при температуре выше 0°.

Говоря об исследованиях Исаченко по хлорофиллу, нельзя не упомянуть о его замечательной работе позднейшего периода (1946). Изучая пурпурные серобактерии,

обнаруженные на больших глубинах в пластовых водах нефтяных месторождений, Исаченко экспериментально показал, что пигменты этих бактерий (в том числе бактериохлорофилл) образуются в темноте на органическом субстрате.

Три статьи первого тома «Избранных трудов» посвящены светящимся бактериям. В 1910 г. Исаченко наблюдал на берегу реки Южный Буг (около Николаева) свечение комаров из рода Chironomus. Тело не только живых, но и мертвых насекомых ярко светилось голубовато-зеленоватым светом. Чрезвычайно образно описывает он некоторые свои наблюдения (стр. 60): «Однажды мне пришлось наблюдать, как живой светящийся комар попал в паутину крестовика. Я застал тот момент, когда комар еще бился в паутине, а паук, не побоявшийся его яркого света, тщательно запутывал его в свою паутину. Интересно было наблюдать работу паука при этом фантастическом освещении, когда в конце концов и лапки и ротовые части паука, запачканные светящимся налетом комара, засветились в свою очередь, а сам паук принял вид необыкновенно странного существа со светящейся головой». В результате из тела комара была выделена светящаяся бактерия Bact. chironomi. Другая, тоже светящаяся бактерия Bact. hippanici была найдена в воде Южного Буга. На основании отношения этой бактерии к хлористому натрию Исаченко высказал предположение о ее морском происхождении. Его соображения очень интересны. Они дают основание считать, что он уже в то время (1911) признавал изменчивость микроорганизмов под влиянием условий внешней среды (в данном случае условий солевой концентрации воды).

Статья «О нитрификации на стенах и о разрушении вследствие этого кирпича» (стр. 101) должна быть отмечена потому, что она положила начало работам Исаченко и его сотрудников над биологической коррозией строительных материалов. Обследовав случаи разрушения («выветривания») кирпичей на стенах различных сооружений, Исаченко неизменно обнаруживал наличие нитрифицирующих бактерий в разрушенном материале. Это дало ему основание связать процесс разрушения кирпича с деятельностью указанных бактерий. Не ограничиваясь выяснением сущности процесса, он высказал ряд практически ценных положений об условиях, влияющих на нитрификацию, протекающую на поверхности кирпичных сооружений.

К моменту оформления указанной статьи (1915) Исаченко уже располагал данными об участии бактерий в разрушении не только кирпичей, но и цемента и бетона (стр. 102). Однако результаты соответствующих работ были им опубликованы лишь через 21 год. В образцах пород из области вечной мерзлоты Исаченко обнаружил на значительной глубине (до 4 м) бактерий, растущих на МПБ и вызывающих брожение на среде Виноградского для анаэробной азотфиксации. Найденные бактерии принадлежали преимущественно к спороносным формам (стр. 93).

Центральное место в первом томе занимает монография «Исследования над бактериями Северного Ледовитого океана», давно ставшая классическим трудом в области общей, морской и арктической микробиологии.

Когда Исаченко приступил к исследованию Баренцова моря (1906), сведения о микроорганизмах в морях, вообще, и в арктических, в особенности, были очень односторонними и скудными. Как справедливо он указывает (стр. 111), «мы знали более или менее полно состав фауны, располагаем сведениями о составе флоры, а своеобразный мир бесконечно малых организмов (infiniment petites) оставался в стороне, или же существование его в этих полярных странах отрицалось совершенно». Тем более поразительными получились результаты исследования Исаченко. Там, в глубинах арктического бассейна, оказалась жизнь, приспособленная к условиям внешней среды и вызывающая многообразные биохимические превращения. Разложение белков, нитрификация, денитрификация, усвоение свободного азота, восстановление сульфатов, окисление сероводорода и серы — такова картина жизнедеятельности арктических микроорганизмов (бактерий, актиномицетов, грибов), которую Исаченко мастерски написал широкими мазками. Его работа (особенно обнаружение денитрифицирующих, нитрифицирующих и сульфатвосстанавливающих бактерий в донных отложениях Баренцова моря) привлекла к себе внимание различных исследователей.

В то время была широко распространена гипотеза Брандта, связывавшая степень продуктивности морей с жизнедеятельностью денитрифицирующих бактерий. Согласно представлениям Брандта, относительная бедность планктона тропических морей объясняется недостатком нитратов, восстанавливаемых денитрификаторами до газообразного азота. В арктических же водоемах, как полагал Брандт, эти бактерии из-за низких температур не могут проявлять своей жизнедеятельности. Исследование Исаченко обнаружило несостоятельность этой гипотезы; из донных отложений и воды Баренцова моря удалось выделить 14 видов бактерий (кокков и неспороносных палочек), восстанавливающих нитраты и нитриты при низких температурах и при содержании в среде 3,5% NaCl. Последующие работы как самого Исаченко [1], так и других исследователей полностью опровергли гипотезу Брандта.

Данные Исаченко о наличии нитрифицирующих бактерий в Баренцовом море встретили к себе скептическое отношение со стороны американского микробиолога

[1] См. помещенные в первом томе статьи «О гипотезе Брандта и денитрифицирующих бактериях Черного и Мраморного морей», «Микробиологическая характеристика грунтов и воды Карского моря» и «Характеристика бактериологических процессов в Черном и Азовском морях».

Липмана, не допускавшего присутствия этих бактерий в морях. Однако этот скептицизм оказался совершенно беспочвенным перед лицом фактов, полученных в более позднее время. Нитрифицирующие бактерии были найдены не только в различных морях, но и в водоемах с гораздо более высокой соленостью (например, в одесских лиманах). В донных породах Баренцова, а затем Карского морей Исаченко обнаружил только бактерию первой фазы нитрификации (Nitrosomonas). Впоследствии была найдена в морях и бактерия второй фазы этого процесса (Nitrobacter). В одесских лиманах последняя появляется лишь в годы опреснения водоемов.

Анаэробные сульфатвосстанавливающие бактерии Исаченко обнаружил в Баренцовом (стр. 238), Карском (стр. 354), Черном и Азовском (стр. 328) морях. Он разделял мнение Бейеринка и Ван-Дельдена, описавших два вида сульфатвосстанавливающих бактерий: морской вид Microspira aestuarii и пресноводный вид Microspira desulfuricans. Однако изучение изменчивости этих бактерий показало, что они являются формами одного вида, способного приспосабливаться к различным условиям солености среды.

В начале нынешнего столетия Егуновым была высказана гипотеза о существовании в Черном море, у верхней границы сероводородной зоны, гигантской бактериальной «пластинки», т. е. тонкого слоя мути, образованного скоплением серобактерий. Эта «пластинка», как полагал Егунов, делит море на две неравные части: верхнюю, где отсутствует сероводород, и нижнюю, в которой вода содержит нарастающее с глубиной количество этого газа. Такие водоемы с резко выраженной вертикальной зональностью и с «пластинкой» серобактерий (иногда окрашенной в розовый цвет) на некотором расстоянии от дна водоема Егунов назвал биоанизотропными. Поиски «пластинки» в Черном море, проведенные Исаченко в 1923—1926 гг., не увенчались успехом (стр. 364). Не была она обнаружена там и в последнее время (Крисс), а новейшие представления о гидрологическом режиме Черного моря (Водяницкий) делают очень сомнительной возможность образования подобной «пластинки» в этом море. Однако биоанизотропные водоемы вообще существуют. Один из них — Могильное озеро на острове Кильдине — был изучен Исаченко во время его исследований Баренцова моря (стр. 231 и 264). Здесь, на глубине 13 м, он обнаружил розовый слой воды, содержавшей пурпурные серобактерии (Chromatium). В советское время были подробно исследованы Славянские озера (Донбасс), оказавшиеся типичными биоанизотропными водоемами.

Работа «Микроскопический анализ грунтов Азовского и Черного морей» (стр. 324) заслуживает внимания, так как в ней приведены результаты количественного учета микроорганизмов прямым методом, впервые примененным Исаченко в области морской микробиологии. Это позволило обнаружить в морских отложениях во много раз больше микроорганизмов, чем при помощи метода разливок.

В вводных статьях Мишустина (стр. 7) и Кузнецова (стр. 20) приводится обстоятельная характеристика многогранной деятельности Исаченко. Как указывает Имшенецкий (стр. 5), «Борис Лаврентьевич прежде всего биолог-натуралист и исследователь-путешественник». В этом легко убедиться, просмотрев список научных трудов Исаченко (стр. 27) и взглянув на географическую карту (стр. 4), где отмечены места научных экспедиций Исаченко и его сотрудников.

Подбор работ, вошедших в первый том, можно считать удачным. Следовало только включить статью Исаченко «Микробиологические исследования морей СССР» (Микробиология, т. VI, вып. 8, 1937). Эта итоговая работа дает представление о масштабе исследовательской деятельности Б. Л. Исаченко и его учеников в области морской микробиологии в советское время.

Общее впечатление от «Избранных трудов» — как от картинной галереи, где собраны полотна большого мастера. Краски от времени не тускнеют, а давно знакомое содержание каждый раз воспринимается в новом освещении.

Л. И. Рубенчик

БИБЛИОГРАФИЯ *

Общая микробиология

а) Общие работы, морфология, биология и систематика

Ахинян Р. М., О некоторых морфологических свойствах дрожжей винограда «Кахет». Микробиол. сборник АН Арм.ССР, 1951, № 6, стр. 128—142.
Белоусова-Троицкая Н. И. Изменчивость гемолитического стрептококка под влиянием лейкоцитов. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1952, № 1, стр. 76—77.
Берулава С. И. Изменчивость микробов и иммунитет. Под ред. А. В. Качахидзе. Тбилиси, 1951. 296 стр.
Берулава С. И. Изменчивость микробов. Ветеринария, 1951, № 12, стр. 8—12.
Брежнев И. Е. Новые виды грибов из Курской области. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 183—193.
В Президиуме Академии Наук СССР. Научная конференция в Институте микробиологии АН СССР. Вестник АН СССР, 1951, № 10, стр. 112—114.
Візір П. Э. Про теорію імунітету Бошьяна. Вісник Академії наук УРСР, 1952, № 1, стр. 46—55.
Гайсинович А. Е. И. И. Мечников — выдающийся творческий дарвинист. К 35-летию со дня смерти. Естествознание в школе, 1951, № 5, стр. 35—39.
Гамалея Н. Ф. Собрание сочинений. Ред. коллегия: действ. чл. АМН СССР Н. Н. Жуков-Вережников (предс.) и др. М., Изд-во Акад. мед. наук СССР, 1951, т. 2, 368 стр.
Гольдин М. И. Силикатные микробы. Наука и жизнь, 1952, № 1, стр. 31—32.
Горгиев Т. Б., Степанова А. П. и Алиева Р. О. К вопросу об антагонистической роли B. coli в организме. Вопросы эксперим. биол. и мед., 1951, № 1, стр. 235—240.
Дроботько В. Г. Об одной интересной идее. (З приводу брошури В. А. Крестовникової «К изучению о стадиях развития микроорганизмов»). Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 3, стр. 101—103. (На укр. яз.).
Житова Е. И., Лавровский В. М. и Иванова Н. А. О фильтрующихся формах бактерий. Сборник трудов Горьковского ин-та эпидемиол. и микробиол., 1951, стр. 13—21.
Иерусалимский Н. Д. Проблема онтогенеза бактерий и пути к ее разрешению. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1941, вып. 1, стр. 5—43.
Имшенецкий А. А. О задачах селекции микроорганизмов. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1951, вып. 1, стр. 108—119.
Имшенецкий А. А. и Раутенштейн Я. И. Направленная изменчивость и селекция микроорганизмов. Медицинский работник, № 2 (1018) от 6.I.1952.
Исаченко Борис Лаврентьевич. Вступит. статья П. И. Усачева. Библиогр., сост. Н. М. Асафовой и Р. И. Блау. М., Изд-во АН СССР, 1951, 61 стр.
Калина Г. П. Фильтрующиеся формы бактерий. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, вып. 1, 1951, стр. 44—62.
Калина Г. П., Рыбас И. И. и Сомова А. Г. Вегетативная гибридизация бактерий. «Замаскированные» штаммы дизентерийных бактерий и методы их выявления. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1952, № 1, стр. 72—76.
Катаев И. А. Новые виды ржавчинных грибов из Туркменской ССР. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, т. VII, 1951, стр. 170—177.
Квасников Е. И. Задачи микробиологических исследований в Академии Наук Узбекской ССР. Известия АН УзССР, 1951, стр. 112—113.
Квасников Е. И. Некоторые особенности биологии молочнокислых бактерий и новые методы их исследования. Известия АН УзССР, 1951, № 3, стр. 41—53.
Квасников Е. И. Всесоюзная конференция по микробиологии. Виноделие и виноградарство СССР, 1952, № 1, стр. 56—58.

* Составлена сотрудниками библиотеки Отделения биологических наук АН СССР под руководством доктора биологических наук Т. К. Лепина.

Козин И. Д. О новой разновидности Bacillus migrans. Сборник трудов Горьковского ин-та эпидемиол. и микробиол., 1951, стр. 143—147.
Колошина Л. М. Новые виды пероноспоровых грибов из Туркменской ССР. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 121—124.
Комарова Л. И. Селекция дрожжей, сбраживающих патоку (мелассу) высоких концентраций. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1951, № 1, стр. 136—141.
Корбонская Я. И. Новые виды ржавчинных грибов из Таджикской ССР. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 178—181.
Красильников Н. А. Биологическое значение антибактериальных веществ. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1951, вып., стр. 142—154.
Кудрявцев В. И. К проблеме вида у микроорганизмов. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1951, вып. 1, стр. 86—107.
Лавров Н. Н. Флора грибов и слизневиков Сибири и смежных областей Европы, Азии и Америки. Томск, 1951, вып. 4, 312 стр. с илл.
Лесников Е. П. Противогрибковое действие фитонцидов. Природа, 1951, № 10, стр. 56—58.
Литвинов М. А. Рец. на кн.: Мишустин Е. Н. Термофильные микроорганизмы в природе и практике. М.— Л., 1950. Природа, 1951, № 9, стр. 85—86.
Литвинов М. А. Рец. на кн.: Красильников Н. А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества. М.— Л., 1950. Природа, 1951, № 10, стр. 90—94.
Лихачев Н. В. и Сюрин В. Н. Опыт изменения биологических свойств вируса чумы птиц. Агробиология, 1951, № 6, стр. 113—116.
Матвеева Т. С. Новая характеристика рода Alternaria Nees. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 124—129.
Матвеева Т. С. Новые виды Alternaria из окрестностей Самарканда. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 129—131.
Мейсель М. Н. и Медведева Г. А. Против извращения и фальсификации морганистами цитологии дрожжевых организмов. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1951, вып. 1, стр. 63—85.
Мечников И. И. Вопросы иммунитета. Избранные труды. Ред. статья «Фагоцитарная теория И. И. Мечникова», стр. 647—708 и примеч. действ. чл. Акад. мед. наук СССР Л. А. Зильбера. М., Изд-во Акад. мед. наук СССР, 1951, 735 стр. с илл.
Одинцова С. В. О возможной длительности периода покоя у микроорганизмов. Доклады Всесоюзн. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 11, стр. 29—32.
Пасечник А. М. Значение анаэробиоза в жизнедеятельности измененных клеток Cl. butyricum. Мікробіологичний журнал, 1951, т. 13, № 3, стр. 23—37. На укр. яз. Резюме на русск. яз.
Поруцкий Г. В. и Алексеенко Р. Д. Влияние сока алоэ на патогенные свойства дрожжей. Природа, 1951, № 12, стр. 48—49.
Практикум по физиологии растений с основами микробиологии. (Пособие для фак. естествознания пед. ин-тов). Под ред. Д. Ф. Проценко. Киев, «Рад. школа», 1951, 228 стр. с илл.
Программа курса микробиологии. Для фармацевт. ин-тов. Утв. в июне 1951 г. М., Медгиз, 1951, 18 стр.
Программа по микробиологии. (Для агр. фак. с.-х. вузов.) Утв. Главн. упр. с.-х. вузов в мае 1951 г. М., 1951, 8 стр.
Программа по микробиологии. (Для заоч. отделений биол. почв. фак. гос. ун-тов). Утв. Глав. упр. ун-тов. М., 1951, 11 стр.
Проценко Д. Ф. Дмитрий Иосифович Ивановский. (К 30-летию со дня смерти). Наукові записки Київського державного університету ім. Т. Г. Шевченко, 1951, т. 10, вып. 2, стр. 37—54.
Рыжков В. Л. Электронная микроскопия доклеточных форм жизни (Исследование вирусов). Природа, 1951, № 9, стр. 48—52.
Сухов К. С. Проблемы современной вирусологии. Философские вопросы современной биологии, 1951, стр. 335—345.
Трухманов Б. Г. Работа Днепропетровского общества микробиологов, эпидемиологов и инфекционистов за 1949—1950 гг. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 3, стр. 104. На укр. яз.
Ульянищев В. И. Головневые грибы Азербайджанской ССР. Автореферат дисс. на соиск. уч. ст. доктора биол. наук. Баку. Изд-во АН Азербайдж. ССР, 1952, 49 стр. На правах рукописи.
Федоров М. Микробиология. Учебник для высш. с.-х. учеб. заведений. Пер. с 4-го русск. испр. и доп. изд. А. Калнинь. Рига, Латгосиздат, 1951, 424 стр. На латыш. яз.
Федоров М. В. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Пер. со 2-го перераб. и доп. изд. А. Калнинь. Рига, 1951, 252 стр. На латыш. яз.
Харитонов Д. Е. Об антибиотиках животного происхождения. Известия Естественно-научн. ин-та при Молотовском гос. ун-те, т. 13, вып. 2—3, 1951, стр. 73—78.

Харитонов Д. Е. и Филиппова К. Ф. Влияние паутинного шелка Cheiracanthium на развитие некоторых непатогенных микроорганизмов. Известия Естественно-научного ин-та при Молотовском гос. ун-те им. А. М. Горького, 1951, т. 13, № 2—3, стр. 79—83.

Холодный Н. Г. Органические вещества в атмосфере. Наука и жизнь, 1951, № 11, стр. 19—21.

Хохряков М. К. Новые виды грибов. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 142—148.

Цион Р. А. Болезнетворные микробы и вирусы. М.—Л., Сельхозгиз, 1951, 79 стр. с илл.

Шумиленко Е. П. Специализация корончатой ржавчины овса. Ботан. журнал, 1951, № 6, стр. 635—642.

б) Биохимия и физиология

Анисимова В. А. Биохимическая характеристика возбудителей вилта хлопчатника. Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними, 1951, стр. 159—171.

Билай В. И. К. А. Тимирязев и некоторые вопросы изучения физиологии микроорганизмов. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 3, стр. 94—101. На укр. яз.

Борискина К. И. Использование пептолитических свойств желтой сарцины в приготовлении питательных сред. Журнал микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1952, № 1, стр. 81.

Гостев В. С. Биохимические основы медицинской бактериологии. М., Изд-во АН СССР, 1951. 164 стр.

Гранитова О. Н. Биохимические особенности трахеомикозных заболеваний (увядание хлопчатника). Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними, 1951, стр. 172—200.

Диканская Э. М. Образование рибофлавина (витамина B_2) микроорганизмами. Eremothecium ashbyii как образователь рибофлавина. Дисс. на соиск. уч. ст. кандидата биол. наук. М., 1951, 203 стр., 40 л. илл. На правах рукописи.

Диканская Э. М. Образование рибофлавина (витамина B_2) микроорганизмами. Eremothecium ashbyii как образователь рибофлавина. Автореферат дисс., представлен. на соиск. уч. ст. кандидата биол. наук. М., 1951, 16 стр.

Дубровская И. И. и Шипицина Г. К. Изменение состава специфических веществ, извлекаемых из бактерий при многократной экстракции. Биохимия, 1951, т. 16, вып. 4, стр. 328—333.

Ерзинкян Л. А. и Мурадян Е. А. О культуральных и биохимических свойствах ацидофильных бактерий. Микробиол. сборник АН Арм. ССР, 1951, № 6, стр. 93—113. Резюме на русск. яз.

Имшенецкий А. и Перова К. Образование амилазы складчатыми расами Aspergillus niger. Доклады АН СССР, 1951, т. 81, № 4, стр. 685—687.

Китавин Г. С. К вопросу о значении железа для образования каталазы грибом Aspergillus niger. Доклады АН СССР, 1952, т. 82, № 3, стр. 435—438.

Колчинская И. Д. Протеолитические ферменты бактерий. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 4, стр. 87—99. Текст на укр. яз.

Красновский А. А. и Войновская К. К. Обратимое фотохимическое восстановление и окисление бактериохлорофилла и бактериофеофитина. Доклады АН СССР, 1951, т. 81, № 5 ,стр. 879—882.

Мешков Н. В. Вещества, активирующие рост микроорганизмов в корневых выделениях растений. Журнал общей биологии, 1952, т. 13, № 1, стр. 76—81.

Михлин Э. Д. и Голышева М. Г. Влияние гистидина на окисление сорбита бактериями Acetobacter melanogenum. Доклады АН СССР, 1952, т. 82, № 3, стр. 439—441.

Модель Л. М. Биология и биохимия туберкулезных микробактерий. М., Изд-во Акад. мед. наук СССР, 1952, 248 стр.

Мурзаев П. М. О возможных методах ускорения природных процессов образования и накопления самородной серы. Доклады АН СССР, 1950, т. 72, № 2, стр. 343—345.

Оршанская В. Н. Некоторые итоги изучения культур гриба Deuterophoma tracheiphila Petri и перспективы их использования в борьбе с болезнью усыхания цитрусовых — «мальсекко». Известия АН СССР, Серия биол., 1952, № 1, стр. 89—100.

Понтович В. Э. О возможности использования углекислоты в синтетических процессах гетеротрофных организмов. Известия АН СССР, Серия биол., 1951, № 5, стр. 120—135.

Романов С. Н. Влияние условий выращивания дрожжей на их сорбционные свойства. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1951, № 9, стр. 224—227.

Рыжков В. Л. Влияние аминокислот и близких к ним соединений на репродукцию вируса табачной мозаики. Доклады АН СССР, 1951, т. 80, № 4, стр. 677—680.

Сухенко Ф. Т. и Подгайная Е. С. Расщепление белков ферментами Fusarium avenaceum. Биохимия, 1951, вып. 6, стр. 528—536.

в) Методы и техника исследования

Френкель Г. М. и Карпенко. Быстрый метод определения активности брожения некоторых анаэробных культур, выделяющих углекислоту. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 3, стр. 92—93. Текст на укр. яз.

Френкель Г. М. и Липшиц В. В. Простые методы выделения культур анаэробных бактерий. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 4, стр. 104—107. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Сельскохозяйственная микробиология

а) Почвенная микробиология, бактериальные удобрения

Александрова И. В. Процессы гумусообразования в некоторых горных примитивных почвах. Почвоведение, 1951, № 10, стр. 604—616.

Аристовская Т. В. Количественное отношение между аэробами и анаэробами в некоторых почвах. Почвоведение, 1951, № 12, стр. 757—762.

Барбалис П. Д. Бактериальные удобрения и их значение. Рига, Латгосиздат, 1951, 32 стр. На латыш. яз.

Березова Е. Ф., Бородулина Ю. С., Оксентьян У. Г., Певзнер Р. И., Финкельштейн М. Я. Влияние известкования на микрофлору почвы и корневой системы растения. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 146—170.

Березова Е. Ф. и Ремпе Е. Х. Микрофлора корневой системы растения и методика ее изучения. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 39—55.

Береснева В. Н. и Чемоданова Е. В. Микрофлора, разлагающая растительные остатки с образованием перегноя, и ее значение для корневого питания растений. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 6—16.

Билай В. И. Микроорганизмы и их роль в жизни высших растений. Киев, Изд-во АН Укр. ССР, 1951, 52 стр. с илл. На укр. яз.

Блинков Г. Н. Взаимосвязь между азотобактером и реакцией среды. Учен. записки (Томский гос. пед. ин-т), 1951, т. 8, стр. 135—179.

Бородулина Ю. С. Сортовые особенности бобового растения как фактор, определяющий заражение его клубеньковыми бактериями. Труд. Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 92—102.

Брундза К. Микробиология почвы — основа новой агротехники. Вильнюс, Госполитнаучиздат, 1950, 76 стр. На литовск яз.

Былинкина В. Н., Береснева В. Н., Никитина Е., Лазарев Н. М. Бактериальное удобрение АМБ и эффективность его применения. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, № 12, стр. 66—73.

Возбуцкая А. Е. Вопросы применения гранулированных удобрений на северо-востоке. Сов. агрономия, 1952, № 1, стр. 69—80.

Гебгардт А. Г. О гранулированных бактериальных удобрениях. Агробиология, 1951, № 5, стр. 134—140.

Гельцер Ф. Ю. Приемы обработки желудей микоризным грибком и источники его получения. Сов. агрономия, 1951, № 11, стр. 54—62.

Гладилович Б. Р. Бактериальное удобрение АМБ. Сад и огород. 1952, № 2, стр. 75—77.

Гладилович Б. Р. Применение бактериального удобрения АМБ под многолетние травы. Кормовая база. 1952, № 1, стр. 37—38.

Гладилович Б. Р. и Тарасова А. А. Повышение урожая на заболоченных почвах путем активирования микробиологических процессов. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 74—83.

Горбунова Н. П. Эндотрофная микориза некоторых видов клена. Бюллетень Моск. об-ва испытателей природы. Отд. биол., 1951, вып. 6, стр. 63—77.

Давидовский Г. М. Некоторые биологические особенности культуры эспарцета. II. Сожительство эспарцета с клубеньковыми бактериями и другими видами. Известия АН Арм. ССР, 1951, т. 5, № 8, стр. 721—733.

Доросинский Л. М. Роль микроорганизмов в корневом питании растений. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 17—26.

Езубчык А. А. і Канашэвіч З. Т. Значэнне мікраарганізму у сельскай гаспадарцы. Минск, Дзярж. выд-ва Белорус. ССР, 1950, 42 стр. с илл.

Езубчик А. А. и Конашевич З. И. О влиянии торфо-навозных компостов на микрофлору почвы. Сборник науч. трудов (Ин-т соц. сельск. хоз-ва АН Белорус. ССР), 1951, вып. 1, стр. 148—161.

Заремба В. П. К вопросу о повышении эффективности нитрагина. Труды научной конференции по проблеме использования местных источников удобрений Укр. ССР, 1951, стр. 84—91.

Заремба В. П. Эффективность местного штамма клубеньковых бактерий люцерны — Киевский № 1. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 4, стр. 51—56. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Израильский В. П. Хранение клубеньковых бактерий в высушенном состоянии. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр 171—174.

Исакова А. А. и Анискина З. Н. Сравнительная характеристика микробного сообщества у различных сортов яровой и озимой пшеницы. Сов. агрономия, 1951, № 9, стр. 52—59.

Красильников Н. А. Усвоение корнями растений продуктов жизнедеятельности микробов. Доклады АН СССР, 1951, т. 79, № 5, стр. 879—882.

Кудрина Е. С. Влияние гуминовой кислоты на некоторые группы почвенных микроорганизмов и ее значение для этих организмов как источника питательных веществ. Труды Почвенного ин-та им. В. В. Докучаева АН СССР, 1951, т. 38, стр. 185—253.

Лазарев С. Ф. Биоорганоминеральный комплекс орошаемых почв. Известия АН Уз. ССР, 1951, № 2, стр. 41—53.

Лазарева Н. М. Изменение активности клубеньковых бактерий в зависимости от возраста и фазы вегетации бобового растения. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиол., 1951, т. 12, стр. 103—112.

Лазарева Н. М. Питательные среды для медленно растущих клубеньковых бактерий. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиол., 1951, т. 12, стр. 123—130.

Лайков Н. З. Условия эффективного применения бактериальных удобрений в дерново-подзолистой зоне. Селекция и семеноводство, 1952, № 1, стр. 61—64.

Ламповщиков П. К. Влияние минеральных удобрений на инокуляцию клевера. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 113—122.

Ламповщиков П. К. Инокуляция клевера в связи с известкованием. Доклады Всес. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1952, вып. 1, стр. 19—22.

Лобанов Н. В. Распространение микориз главнейших древесных и кустарниковых пород и степное лесоразведение. Труды Брян. лесохоз. ин-та, 1951, т. V, стр. 35—37.

Лобанов Н. В. Микотрофность древесных растений. Автореферат дисс. на соиск. уч. ст. доктора биол. наук. М., 1952, 15 стр. На правах рукописи.

Лопатин Г. В. Методические указания по закладке опытов в райсемхозах, спецсемхозах и плодоовощных питомниках по применению бактериального удобрения на 1951 г.— Рекомендации по применению и хранению бактериального удобрения нитрагина. Ереван, 1951, 31 стр. На арм. яз.

Лопатина Г. В. Эффективность инокуляции бобовых в зависимости от фазы развития растения. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 84—91.

Матвиенко А. М. О новом виде почвенной водоросли — Bumilleriopsis terricola Matv. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 18—24.

Меграбян А. А. Влияние клубеньковых бактерий экспарцета на рост и урожай растений. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, № 6, стр. 41—49.

Менкина Р. А. Мобилизация фосфора почвы под влиянием жизнедеятельности бактерий, минерализующих фосфорорганические соединения. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 130—145.

Михалева В. В. Об антагонизме между актиномицетами и клубеньковыми бактериями. Доклады Всесоюзн. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 11, стр. 23—28.

Мишустин Е. Н. Микробиологические процессы и структура почвы. Природа, 1951, № 11, стр. 27—38.

Мишустин Е. Н. Почвенная микробиология и ее очередные задачи. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1951, вып. 1, стр. 155—175.

Мишустин Е. Н., Пушкинская С. М., Мирзоева В. Микронаселение почвы и образование микоризы дуба. Труды Комплексной научной экспедиции по вопросам полезащитного лесоразведения, 1951, т. 1, № 2, стр. 352—374.

Паносян А. К. и Киракосян А. В. Аммонифицирующие бактерии и процесс аммонификации в солончаках. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, вып. 6, стр. 51—65.

Паносян А. К., Минасян А. И., Тараян Ш. С. и Арутюнян Р. Ш. К вопросу о взаимодействии некоторых растений, входящих в севооборот и почвенных микроорганизмов. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, вып. 6, стр. 3—23.

Паносян А. К. и Мирзабекян Р. О. Аммонификация мочевины и уробактерии в солончаках. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, вып. 6, стр. 77—92.

Перцева А. Н. О связи корневого питания растений с особенностями биоорганоминерального комплекса почв. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 27—38.

Петросян А. П. О коррелятивной зависимости между весом бобовых растений и количеством клубеньков. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, вып. 6, стр. 25—39. Резюме на рус. яз.

Петросян А. П. и Меграбян А. А. Быстрота разложения мочевины в почвах горных и низменных районов Армении. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, вып. 6, стр. 67—76.

Программа по почвенной микробиологии (Для почв. отд-ний биол.-почв. фак. гос. ун-тов). Утв. Главн. упр. ун-тов. М., Изд-во Моск. ун-та, 1951, 12 стр.

Ремпе Е. Х. Микрофлора корневой системы при выращивании растений в водных культурах. Труды Всес. н.-и. ин-та с.-х. микробиологии, 1951, т. 12, стр. 56—65.

Рубенчик Л. И. Использование бактериальных удобрительных препаратов и их эффективность. Труды научной конференции по проблеме использования местных источников удобрений Укр. СССР, 1951, стр. 76—83.

Рудаков К. И. Микроорганизмы и структура почвы. М., Сельхозгиз, 1951, 48 стр.

Рыбалкина А. В. К сравнительной характеристике некоторых почвенных микроорганизмов. Труды Почвенного ин-та им. В. В. Докучаева АН СССР, 1951, т. 38, стр. 254—279.

Сопрунов Ф. Ф. О некоторых биологических особенностях хищных почвенных грибов Туркмении. Известия Туркменского филиала АН СССР, 1950, № 6, стр. 87—89.

Сопрунов Ф. Ф. Явление гельминтофагии у хищных почвенных грибков-гифомицетов Туркмении. Доклады АН СССР, 1951, т. 81, № 5, стр. 973—976.

Тризно С. И. и Вавуло Ф. П. Об эффективности бактериальных удобрений на торфяных и заболоченных почвах. Сборник научных трудов Ин-та мелиорации водного и болотного хоз-ва АН Белорус. ССР, 1951, т. 1, стр. 132—153.

Холодный Н. Г. Источники органических веществ, выделяемых почвой в воздух. Доклады АН СССР, т. 81, № 4, 1951, стр. 673—676.

Холодный Н. Г. Поглощение почвой органических веществ атмосферы. Доклады АН СССР, 1951, т. 80, № 4, стр. 673—676.

Щепкина О. И. и Палатная Г. Г. Влияние гранулированных удобрений на микрофлору ризосферы растений. Сов. агрономия, 1951, № 9, стр. 60—72.

б) Бактериальные, вирусные и грибные заболевания растений

Авакян С. А. Пути распространения инфекции бактериального побурения кабачков. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, вып. 6, стр. 167—177.

Агарков В. А. Морфология, проявления и ранняя диагностика головни проса. Селекция и семеноводство, 1951, № 10, стр. 21—28.

Анкудинов А. М., Власов А. А. и Шафранская В. Н. Болезни сосны и дуба и борьба с ними в питомниках и культурах (сборник работ). М.— Л., Гослесбумиздат, 1951, 132 стр.

Анкудинов А. М. и Шафранская В. Н. Усыхание ветвей лоха. Лес. хоз-во, 1951, № 11, стр. 68—69.

Анпилогов М. З. Оздоровление семян (зерновых культур) от заболевания головней. Селекция и семеноводство, 1951, № 12, стр. 47—50.

Архипова В. Л. Новое заболевание желудей. Доклады АН Укр. ССР, 1951, № 4, стр. 297—301. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Аскарова С. Борьба с гоммозом хлопчатника с помощью антибиотиков. Хлопководство, 1951, № 5, стр. 37—44.

Бейлин И. Г. Болезни желудей и меры их предупреждения. М., Изд-во АН СССР, 1951, 44 стр.

Бельтюкова К. И. О диапазоне действия препарата «Микроцид» на фитопатогенные бактерии и опыты применения его в борьбе с ними. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 3, стр. 50—64. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Билай В. И. Влияние фузариозного заражения зерна хлебных злаков на всхожесть и рост ростков. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 4, стр. 3—15. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Борьба с сорняками, болезнями и вредителями сельскохозяйственных культур. М., Моск. рабочий, 1951, 44 стр. (Материалы совещания в МК ВКП(б) работников науч.-исслед. Учреждений, специалистов и передовиков сельского хозяйства Моск. обл.).

Ванин С. И., Волков Р. С. и Соколов Д. В. К изучению грибных болезней желудей. Научные вопросы полезащитного лесоразведения, 1951, № 1, стр. 276—284.

Ванин С. И. и Соколов Д. Б. Руководство к лабораторным занятиям по лесной фитопатологии. Л., 1951, ч. 1. 72 стр. с илл.

Васильевский А. П. Испытание коллоидной серы в качестве фунгисида. Бюллетень Глав. ботан. сада, вып. 9, 1951, стр. 115—117.

Ватолкина К. Борьба с гоммозом хлопчатника в новых районах хлопководства. Хлопководство, 1951, № 2, стр. 43—48.

Ватолкин К. Оценка протравителей и способов протравливания семян хлопчатника от гоммоза. Хлопководство, 1951, № 12, стр. 13—20.

Вердеревский Д. Д. и Принц Я. И. Болезни и вредители хлопчатника в Молдавской ССР и меры борьбы с ними. Кишинев, Гос. изд-во Молдавии, 1951, 64 стр. с илл.

Владимирская Н. Н. и Сологубов Л. М. Предупреждайте появление рака картофеля. Пер. и переработ. применительно к условиям Эстон. ССР. Таллин, Эстгосиздат, 1951, 51 стр. с илл. На эстонск. яз.

Власов Ю. Взаимоотношения вируса и растения-хозяина при различных условиях культивирования. Сборник студенч. науч.-исслед. работ (Моск. с.-х. акад. им. Тимирязева), 1951, вып. 3, стр. 30—33.

Воронина А. Д. Вирусное заболевание хлопчатника в Таджикистане. Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними. 1951, стр. 227—232.

Воронина А. Д., Мирпулатова Н. С. и Швер Е. В. Препарат формальдегид-сорбент почва — протравитель хлопковых семян. Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними, 1951, стр. 296—302.

Вредители и болезни полезащитных лесных насаждений и меры борьбы с ними. Под ред. проф. В. Н. Старка. М., Сельхозгиз, 1951, 327 стр. с илл.

Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними. Сборник науч. работ. Под общ. ред. Е. Н. Иванова, К. И. Мирпулатова (отв. ред.) и др. Ташкент, 1951, 356 стр. с илл.

Всесоюзный с.-х. институт заочного образования. Методические указания по курсу «Микробиология». (Для студентов Агр. и Плодоовощного фак.). М., 1951, 13 стр.

Гаврилов М. К. Как бороться с головней. Иркутск, 1951, 24 стр. с илл.

Галачьян Р. М. Изучение сортоустойчивости томатов к бактериальному раку. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, вып. 6, стр. 155—165.

Галачьян Р. М. Определение сортоустойчивости томатов к бактериальному раку серологическим методом. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, вып. 6, стр. 179—194.

Герасимович В. А. и Кравченко Е. П. Обзор грибных и бактериальных заболеваний на ракоустойчивых сортах картофеля. По материалам двухгодичного экспедиционного обследования 1949—1950 гг. Сборник науч. трудов (Ин-т биологии АН Белорус. ССР), 1951, вып. 11, стр. 23—35.

Гомоляко Н. И. К анатомической характеристике грибковых поражений зерна хлебных злаков. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 4, стр. 29—42. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Гомоляко Н. И. Некоторые данные о патогенности для зерна хлебных злаков грибов из родов альтернария гельминтоспориум. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 4, стр. 16—28. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Горленко М. В. Болезни пшеницы. М. Сельхозгиз, 1951, 255 стр. с илл.

Горленко М. В. и Шнейдер Ю. И. О биологической роли фитонцидов высших растений. Журнал общей биологии, 1951, № 5, стр. 363—367.

Гранитова О. Н. О возрастной устойчивости хлопчатника к увяданию. Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними. 1951, стр. 201—203.

Григорян Н. Ф. Проникновение возбудителя увядания в хлопчатник в связи с устойчивостью сортов. Известия АН Арм. ССР, Биол. и с.-х. науки, 1951, № 11, стр. 1029—1039. Резюме на русск. яз.

Гуляев В. В. Меры борьбы с грибными болезнями сеянцев бересклета бородавчатого. Лес. хоз-во, 1952, № 1, стр. 81—82.

Давыдов П. Н. Применение миколитических бактерий в борьбе с американской мучнистой росой крыжовника и некоторыми другими болезнями растений. Доклады Всесоюз. акад. с.-х. наук им. Ленина, 1951, вып. 9, стр. 35—38.

Давыдович С. С. О заболеваемости тимофеевки чехловидной болезнью. Селекция и семеноводство, 1951, № 10, стр. 77—78.

Данелия Б. К. Материалы к изучению коричневой пятнистости чая в Грузии. Бюллетень Всесоюз. н.-и. ин-та чая и субтропич. культур, 1951, № 3, стр. 42—62.

Дорожкин Н. А. и Горленко С. В. Определение жизнеспособности зимних зооспорангиев возбудителя картофельного рака Synchytrium endobioticum (Schilb.) Pers. Доклады АН СССР, 1952, т. 82, № 3, стр. 489—492.

Дорожкин Н. А. и Шариков К. Е. О биологии рака картофеля и способах борьбы с ним. Сборник науч. трудов (Ин-т биологии АН Белорус. ССР), 1951, вып. II, стр. 3—12.

Ефимов А. Л. Справочник по применению ядов для борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений. 4-е пересмотр. и доп. изд. М., Сельхозгиз, 1951, 303 стр.

Жвачкина А. А. Поражение коробочек хлопчатника картофельным бациллом. Соц. сел. хоз-во Узбекистана, 1951, № 4, стр. 72—73.

Зайцев Г. С. Рак картофеля и меры борьбы с ним в Карело-Финской ССР. Петрозаводск., 1951, 72 стр. с илл.

Зерова М. Я. Грибные болезни скумпии (Cotinus coggygria Mill.). Ботанічний журнал, 1951, т. 8, № 3, стр. 64—77.

Инструкция по анализу почвы для выявления очагов картофельного рака. Минск, Изд-во АН Белорус. ССР, 1951, 17 стр. с илл.

Инструкция по борьбе с вредителями, болезнями и сорняками культур хлопковотравопольного севооборота в Узбекской ССР на 1951 год, Ташкент, Изд-во АН УзССР, 1951, 104 стр. На узб. яз.

Инструкция по борьбе с вредителями и болезнями садов в Узбекской ССР. Утв. 20/IV 1950 г. Ташкент, 1951, 20 стр. На узб. яз.

Инструкция по борьбе с фитофторой на весенних и летних посадках картофеля. М. Изд-во М-ва сельского хоз-ва СССР, 1950, 7 стр.

Инструкция по проведению обследования посевов картофеля на выявление рака и мерам борьбы с ним. Кишинев, 1951, 14 стр. с илл.

Инструкция по профилактике и защите декоративных растений от вредителей и болезней в питомниках треста «Госзеленхоз» МКХ РСФСР. Утв. 10/VII 1951. М. Изд-во М-ва коммун. хоз-ва РСФСР, 1951, 44 стр.

Казанский В. В. и Мирпулатова Н. С. Действие поля ультравысокой частоты на гоммоз хлопчатника. Соц. сел. хоз-во Узбекистана, 1951, № 4, стр. 78—79.

Карумидзе С. А. Химические методы борьбы с вредителями и болезнями в сельском хозяйстве. Тбилиси, 1950, 510 стр. На груз. яз.

Кварцхана П. А. Меланозное заболевание цитрусовых. Бюллетень Всесоюзн. науч.-исслед. ин-та чая и субтроп. культур, 1951, № 2, стр. 110—124.

Кечек Н. А. Новые данные о времени заражения пшеницы и ячменя пыльной головней. Известия АН Арм. ССР, 1952, т. 5, № 1, стр. 57—64.

Кечек Н. А. и Суджян З. Г. Головня зерновых злаков и борьба с ней. Ереван, 1951, 37 стр. с илл. На арм. яз.

Княжецкий Б. В. Вредители и болезни зеленых насаждений городов и населенных пунктов Московской области. М.—Л., 1951, 76 стр. с илл.

Коровкина А. В. Меры борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур. Уфа, Башгосиздат, 1951, 27 стр.

Кублановская Г. М. Использование антагонистов против фузариозного увядания хлопчатника. Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними, 1951, стр. 211—220.

Кузина В. П. О роли люцерны в оздоровлении почвы от вертициллиозного увядания хлопчатника. Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними, 1951, стр. 221—226.

Кукин В. Ф. Болезни и вредители. Владимир, 1951, 58 стр.

Ликвентов А. В. и Соколов Д. В. Вредители и болезни молодых лесных полос и меры борьбы с ними. М.—Л., Сельхозгиз, 1951, 88 стр. с илл.

Мамонтова А. Н. Изменение паразита в процессе питания на растении как одна из причин потери устойчивости сортами. Доклады АН СССР, 1952, т. 82, № 3, стр. 493—496.

Методические указания по выявлению вредителей и болезней сельскохозяйственных растений. Под ред. А. М. Никифорова, Т. Д. Безденко. Минск, Изд-во АН Белорус. ССР, 1951, 96 стр. с илл.

Методические указания по обследованию на зараженность цитрусовых культур псоросизом (шелушением коры). (По экспериментальным материалам Вирусной лаборатории Моск. станции защиты растений ВИЗР). М., 1951, 7 стр.

Минкевичюс А. Рак картофеля и других растений. Вильнюс, 1951, 30 стр. с илл. На литов. яз.

Миняева О. М. О распространении антракноза клевера с семенами. Бюллетень Моск. об-ва испытателей природы. Отд. биол., 1951, вып. 5, стр. 91—95.

Мирпулатова Н. С. Фузариозное увядание дынь в Узбекистане. Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними. 1951, стр. 204—210.

Морохина Р. Вредители и болезни плодово-ягодных растений и борьба с ними. Тула, 1951, 20 стр.

Морочковский С. Ф. Бурая пятнистость листьев подсолнечника, вызываемая грибом Septoria helianthi Ell. et Kell. Ботанічний журнал, 1951, т. 8, № 3, стр. 84—85.

Московец С. Значение густоты стояния растений в борьбе с болезнями хлопчатника. Хлопководство, 1951, № 12, стр. 9—12.

Московец С. Н. Скручивание листьев хлопчатника. (Вирусное заболевание). М.—Л., Сельхозгиз, 1951, 104 стр. с илл.

Муравьев В. А. Влияние степени зрелости сахарной свеклы на устойчивость корней против гниения. Сах. промышленность, 1952, № 1, стр. 41—43.

Мушникова К. С. Головня зерновых культур и меры борьбы с нею. Вильнюс, 1951, 59 стр. с илл. На литов. яз.

Наумов Н. А. и Данилова Т. Д. Новые виды грибов на желтой акации. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VI, стр. 132—142.

Наумова Н. А. Анализ семян на грибную и бактериальную инфекцию. М.—Л., Сельхозгиз, 1951, 140 стр. с илл.

Никифоров А. М. Рец. на кн.: Попова М. А. и Соболева В. П. Вредители и болезни плодово-ягодных культур. М., Сельхозгиз, 1951. Сад и огород, 1951, № 10, стр. 78.

Оболенский В. Н. Картофельный рак и меры борьбы с ним Вильнюс, 1951, 52 стр. с илл. На литовск. яз.

Павлов В. П. Вредители и болезни плодово-ягодных насаждений и меры борьбы с ними. Грозный, 1951, 64 стр. с илл.

Перегончено Б. М. Фузариозное увядание гваюлы в Таджикистане. Сел. хоз-во Таджикистана, 1951, № 6, стр. 30—33.

Порженко В. В. Испытание препаратов «НИУИФ» и «формальдегидсорбент поч-

ва» в борьбе с корневой гнилью всходов хлопчатника. Доклады АН Укр. ССР, 1951, № 4, стр. 287—290. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Потапенко Я. И. Защита виноградников против пятнистого некроза. Виноделие и виноградарство СССР, 1951, № 8, стр. 33—37.

Потресова М. А. Промывание водой яровизированных семян люпина, как мера борьбы с плесенями. Известия АН Белорус. ССР, 1951, № 3, стр. 75—82.

Присяжнюк А. А. Влияние полезащитных насаждений на перезимовку и уменьшение фузариозных заболеваний озимой пшеницы. Известия АН Белорус. ССР, 1951, № 5, стр. 63—68.

Программа по общей фитопатологии и учению об иммунитете. (Для фак. защиты растений с.-х. вузов). Утв. Глав. упр. с.-х. вузов в мае 1951 г. М., 1951, 19 стр.

Программа по сельскохозяйственной фитопатологии. (Для фак. защиты растений с.-х. вузов). Утв. Глав. упр. с.-х. вузов в мае 1951 г. М., 1951, 19 стр.

Проценко А. Е. Инфекционное усыхание цитрусовых (мальсекко) и меры борьбы с ними. Автореферат дисс. предс. на соиск. уч. ст. кандидата биол. наук. М., 1951, 12 стр.

Проценко Е. П. О паразитном грибе на Mahonia aquifolium Nutt. Бюллетень Главн. ботан. сада, вып. 6, 1950, стр. 50—53.

Рабунец Н. А. Протравливание семенников моркови как способ борьбы с заболеваниями при хранении. (Опыт Грибов. овощной селекционной станции. Моск. обл.) Сад и огород, 1951, № 9, стр. 62—63.

Развязкина Г. М. Табачный трипс — переносчик верхушечного хлороза махорки. Зоол. журнал, 1952, вып. 1, стр. 44—46.

Рекутин В. Ф. Вредители и болезни хлопчатника и люцерны и меры борьбы с ними. Сталинабад, Таджикгосиздат, 1951, 64 стр. с илл. На узб. яз.

Рекутин В. Ф. Вредители и болезни хлопчатника и люцерны и меры борьбы с ними в Таджикской ССР. Сталинабад, Таджикгосиздат, 1951, 63 стр. На тадж. яз.

Ридер В. А. Краткий обзор развития вредителей и болезней сельскохозяйственных растений и лесных пород в 1950 году и предположения о их появлении в 1951 году в Воронежской области. Воронеж, 1951, 38 стр.

Рунов В. И. К вопросу о диагностике фузариозного увядания дынь. Доклады АН Уз. ССР, 1951, № 11, стр. 30—32.

Савздарг Э. Э. и Трофимович А. Я. Борьба с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений. Ереван, 1951, 80 стр. На арм. яз.

Самунджева Э. М. К изучению отличительных особенностей переносчиков столбура (томатов) в Грузии. Сообщ. АН Груз. ССР, 1951, № 6, стр. 361—368.

Сенекеримян Я. А. К биологии возбудителей парши груши и яблони в условиях Кироваканского района. Известия АН Арм. ССР, 1951, т. 4, № 8, стр. 779—785. Резюме на арм. яз.

Сергеева К. С. Новый сумчатый гриб на Rhododendron dahuricum L. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 181—183.

Сирадзе Ш. К. Материалы к изучению патогенности гриба Botrytis cinerea Pers., возбудителя «серой гнили» тунга. Труды Груз. с.-х. ин-та им. Берия, т. 34, 1951, стр. 181—188. На груз. яз. Резюме на русск. яз.

Соловьева А. И. Методика создания провокационного фона. Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними, 1951, стр. 151—158.

Среднеазиатская станция защиты растений. Ташкент. Новые материалы по защите растений в Средней Азии (Из отчета за 1949 г.). Ташкент, 1950, 24 стр.

Среднеазиатская станция защиты растений. Ташкент. Новые материалы по защите растений в Средней Азии (Рефераты по отчетам за 1950 г.). Ташкент, Изд-во АН Уз. ССР, 1951, 48 стр.

Сушицкий Л. А. Главнейшие ядохимикаты, применяемые в борьбе с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур в Крымской области. Симферополь, Крымиздат, 1951, 44 стр.

Таратунина О. И. Обработка семян хлопчатника сульфатаммонием в борьбе с корневой гнилью. Вредители и болезни хлопчатника и других культур и борьба с ними. 1951, стр. 303—305.

Тетеревникова-Бабаян Д. Н. Оидиум виноградной лозы. Ереван, Изд-во АН Арм. ССР, 1951, 141 стр.

Тетеревникова-Бабаян Д. Н. и Симонян С. А. Болезни субтропических культур в Армянской ССР. Известия АН Арм. ССР, 1952, т. 5, № 1, стр. 65—78.

Ульянищев В. И. Влияние протравливания формалином на степень поражения растения при вторичном заражении семян пшеницы спорами твердой головни. Доклады АН Азерб. ССР, 1951, № 12, стр. 583—586.

Фиалковская Е. А. Болезни кормовых бобовых и злаковых трав и меры борьбы с ними. Киев, Изд-во АН Укр. ССР, 1951, 36 стр. с илл.

Хробрых Н. Д. Малоизвестное заболевание картофеля. Селекция и семеноводство, 1952, № 1, стр. 27—30.

Цилосани Г. А. Бактериальный рак чайных кустов и борьба с ним. Бюллетень Всесоюз. науч.-исслед. ин-та чая и субтроп. культур, 1951, № 2, стр. 80—85.

Черемисин В. Опыт борьбы со сферотекой крыжовника. Сад и огород. 1952, № 1, стр. 41.
Черемисинов Н. А. Новый гриб на дикорастущем кок-сагызе. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 149—154.
Черемисинов Н. А. Патогенная микофлора кок-сагыза. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 155—170.
Чернышова О. П. Действие углекислого кальция на жизнедеятельность Actinomyces scabies (Thaxt) Güss., возбудителя обыкновенной парши картофеля. Доклады АН СССР, 1951, т. 81, № 3, стр. 473—475.
Чукова З. В. Сосудистый бактериоз кок-сагыза на торфяных почвах БССР. Сборник науч. трудов (Ин-т биологии АН Белорус. ССР), 1951, вып. II, стр. 36—45.
Шариков К. Е. Как распознавать живые и мертвые зооспорангии возбудителя картофельного рака. (Метод. указания). Минск, 1951, 7 стр. с илл.
Шафранская В. Н. Заболевание желудей антракнозом и борьба с ним. Лес и степь, 1951, № 10, стр. 84—85.
Шеренговый П. З. К биологии возбудителя черного рака плодовых деревьев. Сборник студенческих науч.-исслед. работ Уманского с.-х. ин-та, 1951, вып. 1, стр. 45—49.
Шкляр Т. Н. Влияние условий выращивания на устойчивость лука к шейковой гнили. Рефераты докладов ТСХА, 1951, № 13, стр. 179—184.
Шнейдер Ю. И. Бактериальный некроз цитрусовых на Черноморском побережье Кавказа. Автореферат дисс. на соиск. уч. ст. кандидата биол. наук. М., 1952. 16 стр. На правах рукописи.
Штеренберг П. М. Грибная флора корней полевых растений. Агробиология, 1951, № 4, стр. 63—79.
Штраух С. А. К биологии гриба Phomopsis quercella, вызывающего заболевание желудей. Доклады АН СССР, 1951, т. 81, № 1, стр. 109—112.

Пищевая и техническая микробиология

Барикян Х. Г. Опыт по ускоренному методу хересизации. Доклады АН Арм. ССР, 1951, т. 14, № 1, стр. 29—31.
Голосовкер И. Я. Борьба с гниением древесины в зданиях и сооружениях. Архангельск, Арханг. обл. гос. изд-во, 1951, 48 стр. с илл.
Журавский Г. И. Глубинный способ получения лимонной кислоты с помощью грибов рода Aspergillus. Доклады АН СССР, 1951, т. 80, № 5, стр. 797—800.
Калюжный М. Я. и Карасик Е. Л. Применение подвижной насадки в дрожжевых чанах. Гидролизная пром-сть. 1950, № 4, стр. 13—14.
Крючкова А. П. и Фишер П. Н. Сбраживание древесных гидролизатов дрожжами из рода Schizosaccharomyces. Гидролизная пром-сть, 1951, № 3, стр. 4—7.
Кук Г. А. Пастеризация молока. М., Пищепромиздат, 1951, 240 стр. с черт.
Мосиашвили Г. И. R- и S-формы дрожжей и их применение в виноделии. Труды Ин-та виноградарства и виноделия. АН Груз. ССР, 1951, т. 7, стр. 239—256. Резюме на русск. яз.
Нахманович Б. М. и Кочкина Л. В. О сбраживаемости рафинозы дрожжами расы «Я» в условиях переработки кормовой патоки на спирт. Биохимия, 1951, т. 16, № 6, стр. 522—527.
Непомнящая М. Л. и Либерман Л. А. Влияние бактериофага Str. lactis на процесс созревания голландских сыров. (Экспериментальные варки). Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 4, стр. 43—50. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.
Нефедьева Н. П. Выжимаемость бактерий кишечной группы и протея в яичном порошке при его изготовлении и хранении. Гигиена и санитария, 1951, № 9, стр. 46—49.
Останин С. Н. Влияние фурфурола на выход спирта при сбраживании гидролизатов. Гидролизная пром-сть, 1951, № 1, стр. 12.
Преображенский А. А. Микробиологический контроль производства безалкогольных напитков. М., Пищепромиздат, 1951, стр. 48.
Райцева М. К. Культуры дрожжей, приспособленные к брожению при 36—40°. Гидролизная пром-сть, 1951, № 1, стр. 15—16.
Саруханян Ф. Г. Интенсивность сбраживания тутового сусла дрожжами. Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, № 6, стр. 115—130.
Саруханян Ф. Г. и Севоян А. Г. К вопросу сбраживания плодово-ягодных сусел. (Предварительное сообщение). Микробиологический сборник АН Арм. ССР, 1951, № 6, стр. 143—154.
Соловых А. В. Применение бактериальной закваски для улучшения холодноводной мочки льна в колхозах. Советская агрономия, 1952, № 1, стр. 81.
Тер-Карапетян М. А. Биологическое окисление этилового спирта в ацетальдегид дрожжами Saccharomyces ellipsoideus методом диспергированной погруженной культуры. Доклады АН Арм. ССР, 1951, т. 14, № 1, стр. 23—28.
Томмэ М. Ф. и Попандопуло П. Х. Применение кормовых гидролизных дрожжей в животноводстве. Гидролизная пром-сть, 1950, № 6, стр. 12—13.

Черевань В. И. Исследование микрофлоры плодовых вин как фактора, повышающего их качество. Сборник студенческих научно-исслед. работ Уманского с.-х. ин-та, 1951, вып. 1, стр. 98—103.

Шамис Д. Л. Увеличение бродильной силы винных дрожжей путем направленного воспитания. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1951, вып. 1, стр. 120—135.

Микробиология воды, лечебных грязей, воздуха и горных пород

Арешштейн А. М. Методика количественного учета микронаселения питьевой воды и оценка качества воды по биологическим показателям. Труды проблемных и тематических совещаний ЗИН. Вып. 1. Проблемы гидробиологии внутренних вод, 1951, стр. 116—120.

Билянский Ф. М. К характеристике микробиальных процессов в лечебной грязи озера Голая Пристань (Гопри) в связи с его осолонением. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 4, стр. 57—59. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

Блохина И. Н. Выживаемость и изменчивость палочек брюшного тифа и паратифа в воде. Сборник трудов Горьковского ин-та эпидемиологии и микробиологии, 1951, стр. 5—12.

Гусева К. А. Взаимоотношения фитопланктона и сапрофитных бактерий в водоеме. Труды проблемных и тематических совещаний ЗИН. Вып. 1. Проблемы гидробиологии внутренних вод, 1951, стр. 34—38.

Гусева К. А. «Цветение» воды, его причины, прогноз и меры борьбы с ним (по материалам Учинского водохранилища). Автореферат дисс. на соиск. уч. ст. канд-та биол. наук. М., 1951, 16 стр. На правах рукописи.

Мусатова А. Я. и Кузнецов С. И. Управление продуктивностью водоемов путем использования биологических методов при внесении удобрений. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, 1951, вып. 1, стр. 176—189.

Прошкина-Лавренко А. И. Новые виды водорослей из соленых водоемов СССР. II. Ботан. материалы отд. споровых растений Ботан. ин-та им. Комарова, 1951, т. VII, стр. 69—74.— 1: т. V, вып. 10—12, 1945.

Речменский С. С. Новые методы бактериологического исследования воздуха. Военно-мед. журнал, 1951, № 9, стр. 51—57.

Родина А. Г. О роли отдельных групп бактерий в продуктивности водоемов. Труды проблемных и тематических совещаний ЗИН, вып. 1. Проблемы гидробиологии внутренних вод. 1951, стр. 23—33.

Хаит С. З. Солевая изменчивость сульфатредуцирующих бактерий Куяльницкого лимана. Мікробіологічний журнал, 1951, т. 13, № 3, стр. 80—91. Текст на укр. яз. Резюме на русск. яз.

ХРОНИКА

КОНФЕРЕНЦИЯ ПО ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

По инициативе Института микробиологии АН СССР была проведена в декабре 1951 г. Всесоюзная конференция по вопросам почвенной микробиологии. В конференции приняли участие представители институтов АН СССР, ее филиалов, академий наук союзных республик, а также сотрудники Академии медицинских наук СССР, институтов Всесоюзной сельскохозяйственной академии имени В. И. Ленина, Московского государственного университета и ряда других научно-исследовательских учреждений и опытных станций. В совещании приняли участие также представители Министерства сельского хозяйства СССР и различных общественных организаций.

В связи с крупными успехами социалистического сельского хозяйства в результате внедрения комплекса Докучаева — Костычева — Вильямса сильно возросли и требования к сельскохозяйственным наукам, в том числе и к почвенной микробиологии. В последние годы появилось много новых данных и обобщений, касающихся характеристики микрофлоры почвы и роли микробиологических процессов в питании растений и в повышении урожайности различных сельскохозяйственных культур.

Критически обобщить накопленные материалы, выделить наиболее важные для практики вопросы, унифицировать методические подходы к исследованиям — являлось основной целью этой конференции.

Конференция продолжалась три дня, с 3 по 6 декабря 1951 г., и проходила под председательством директора Института микробиологии АН СССР члена-корр. АН СССР А. А. Имшенецкого. Участники конференции заслушали 6 основных докладов по различным вопросам почвенной микробиологии и свыше 25 выступлений в порядке обсуждения докладов.

Во всех докладах отмечалось то большое благотворное влияние, которое оказало на развитие отечественной почвенной микробиологии учение классиков почвоведения Докучаева — Костычева — Вильямса, положивших начало биологическому направлению в изучении почвенных процессов и плодородия почвы.

Общеизвестно, что микроорганизмы (грибы, бактерии, актиномицеты, водоросли и простейшие) играют большую роль в развитии биологических процессов в почве. Изучение характера и интенсивности этих процессов является насущно необходимым.

Общим для всех докладов являлось признание важности комплексных исследований различных вопросов почвенной микробиологии, разрешение которых должно идти в тесном содружестве микробиологов с почвоведами, агрономами, биохимиками и физиологами растений.

Одним из основных докладов, вызвавших оживленную дискуссию, был доклад руководителя Отдела почвенных микроорганизмов Института микробиологии АН СССР Е. Н. Мишустина. В своем докладе Е. Н. Мишустин подробно остановился на исследованиях, касающихся разработки учения Вильямса о микробных ассоциациях почв. Несмотря на то, что этими исследованиями в настоящее время охвачена еще весьма ограниченная группа микроорганизмов, полученные данные позволяют отвергнуть теорию вульгарного космополитизма у микробов, развиваемую зарубежными учеными. Докладчик наметил ряд вопросов, изучение которых необходимо для разрешения первоочередных народнохозяйственных проблем. Недостаточно выясненными Е. Н. Мишустин считает: а) количественный и качественный состав микрофлоры различных почв; б) роль ферментов, выделяемых микроорганизмами в процессе их жизнедеятельности, в почве; в) разработку научно обоснованных принципов применения бактериальных удобрений; г) роль микробиологического фактора в питании растений; д) роль почвенных микроорганизмов в процессах образования деятельного перегноя и структуры почвы; е) вопрос взаимоотношений микроорганизмов в почве в связи с использованием микробов-антагонистов и антибиотиков как средства защиты растений от заболеваний.

На разрешение этих основных задач Е. Н. Мишустин предложил мобилизовать все внимание почвенных микробиологов. Ряд вопросов, затронутых Е. Н. Мишустиным, был подробно разобран в следующих докладах.

С докладом на тему «Питание растений и микроорганизмы» выступил П. А. Генкель (Институт физиологии АН СССР).

Указав, что выяснение роли микроорганизмов в питании растений имеет исключительно важное значение для социалистического хозяйства, П. А. Генкель отметил,

что этот вопрос в настоящее время не может считаться сколько-нибудь удовлетворительно решенным. Имеется большое количество фактов, свидетельствующих о наличии микориз у древесных, кустарниковых и ряда травянистых растений, о симбиозе между бактериями или актиномицетами и высшим растением и о развитии специфической микрофлоры в ризосфере растений. Тем не менее характер и способы участия микроорганизмов в питании растений еще не ясны. В то же время возможность независимого корневого питания растений разнообразными веществами может считаться безусловно доказанной. Докладчик предложил систематизировать растения по степени их автотрофности и зависимости от продуктов жизнедеятельности микроорганизмов на три группы.

Далее П. А. Генкель остановился кратко на том, в какой мере применение органо-минеральных гранул вместе с бактериальными препаратами позволяет улучшить питание растений.

М. М. Кононова (Почвенный институт АН СССР) свой доклад посвятила вопросу большой практической и теоретической важности — природе перегноя и механизму процессов образования гумусовых веществ в почве. В настоящее время все многообразие гумусовых веществ объединено в две группы: а) гуминовых (и ульминовых) кислот и б) креновых (и апокреновых) кислот, связанных взаимными переходами.

М. М. Кононова указала на отсутствие систематических микробиологических исследований по вопросу образования перегноя. Между тем микробные ассоциации и отдельные группы микроорганизмов играют большую роль в этом процессе.

Изучение процессов распада растительных тканей и синтеза гумусовых веществ должно быть одной из первоочередных задач почвенных микробиологов. В докладе М. М. Кононовой особый интерес представляют ее материалы о характере циклов накопления — разложения органических веществ в ротации севооборота для некоторых почвенно-климатических зон с различными гидротермическими условиями. Докладчик считает, что углубленными исследованиями микробных ценозов, принимающих участие в разложении травяного пласта в различных почвенно-климатических зонах, можно выявить наличие таких циклов.

Вопросам перегноя и структуры почвы был посвящен также доклад К. И. Рудакова (директор Московского отделения Института сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ). Свой доклад К. И. Рудаков начал с указания, что предметом сообщения М. М. Кононовой был перегной вообще, в то время как агрономически ценной частью почвенного перегноя является активный перегной, способствующий созданию прочноструктурных агрегатов. По представлениям докладчика, активный перегной образуется путем взаимодействия бобовых растений с протопектиназными бактериями и в результате синтетической переработки продуктов распада межклетников корней бобовых растений клубеньковыми бактериями. Протопектиназа бактерий внедряется в корневую систему растений и способствует образованию галактуроновой кислоты, которая, реагируя с протеинами, находящимися в почве, создает прочный агрегат. Интересно, что водопрочные агрегаты получаются только под клевером в процессе его развития. Никакое другое растение — ни тимофеевка, ни пшеница, ни лен, ни капуста — не дают образования таких агрегатов. К. И. Рудаков связывает это с отсутствием в корневой системе указанных растений галактуроновой кислоты или галактозы. При обработке почвы солями кальция и особенно после промораживания процент водопрочных агрегатов сильно возрастает.

Роль инактивного перегноя заключается в доставке при его разложении растению корневого питания. К. И. Рудаков, критикуя данные работ Шулова по корневым выделениям, склонен утверждать, что корневая система нормального растения никаких веществ в процессе жизнедеятельности растения не выделяет.

В своем докладе о роли грибов в процессах почвообразования В. Я. Частухин (Государственный заповедник Воронежской области, ст. Графская) большое внимание уделил процессу распада сложных органических веществ под влиянием различных микроорганизмов. Ведущая роль при разрушении лигноцеллюлозы (особенно в лесных почвах) отводится грибам, причем отмечается неравноценность отдельных групп в том или ином микробном ценозе в различных экологических условиях. Докладчик познакомил слушателей с методами исследований, позволяющими воспроизвести в лабораторных условиях процессы распада опада из листьев клена или дуба и установить, что в процессах минерализации лиственного опада активную роль играет группа подстилочных сапрофитов. Для полного разрешения проблемы плодородия почвы докладчик считает необходимым сочетание точных физиолого-химических исследований с широким комплексным исследованием микрофлоры и микрофауны и с оценкой результатов применения тех или иных приемов по их влиянию на урожай.

В докладе М. М. Голлербаха (Ботанический институт АН СССР) была представлена сводка материалов, накопленных к настоящему времени по вопросу о роли водорослей в почвенных процессах. Отметив недостаточность изученности почвенных водорослей, докладчик привел ряд данных, свидетельствующих о значительной заселенности почвы водорослями. Имеются факты, подтверждающие, что различным растительным ассоциациям соответствует и различный состав почвенных водорослей. Физиологические исследования показали, что водоросли обеспечивают высшие растения водой и питательными веществами. Синезеленым водорослям принадлежит,

например, главенствующая роль в создании гумуса на чисто латеральных субстратах; водоросли принимают участие и в формировании некоторых почв (такыров).

Мирзабекян доложила конференции результаты своих работ по использованию микробов-антагонистов и их продуктов для борьбы с некоторыми бактериальными заболеваниями растений. Эти исследования показывают большую перспективность применения микробов-антагонистов для борьбы с многими возбудителями заболеваний культурных растений.

К сожалению, намеченные Оргбюро конференции доклады И. В. Тюрина (Почвенный институт АН СССР) на тему «Почвообразовательный процесс и деятельность микроорганизмов», М. С. Гилярова (Институт морфологии животных АН СССР) на тему «Почвенная фауна и плодородие почвы» не состоялись.

Министерство сельского хозяйства СССР также не обеспечило конференцию докладчиком и ограничилось посылкой представителя из Отдела пропаганды.

На конференции были развернуты оживленные прения по заслушанным докладам. Многие в своих выступлениях отметили положительное значение настоящей конференции для дальнейшего развития почвенной микробиологии и правильного планирования основных ее проблем. На конференции выявились крупные недочеты, имеющие место в работах по почвенной микробиологии. Это прежде всего отсутствие комплексности между микробиологическими исследованиями и исследованиями почвоведов, биохимиков, физиологов растения и агрономов. М. М. Кононова, Е. Ф. Березова и другие предложили глубоко продумать организационную форму комплексных исследований, возможных лишь при условии единых исходных принципиальных позиций.

Более всего дискутировался вопрос о роли микроорганизмов в питании растений. П. А. Генкелю был сделан серьезный упрек в том, что он в своем докладе недооценивал роли микроорганизмов в питании растений. Достаточное количество новых материалов, полученных в последнее время, анализа которых П. А. Генкель не дал в своем докладе, не позволяют столь категорично стоять на точке зрения автотрофности питания растений. В связи с этим резкую критику встретила и попытка П. А. Генкеля разделить растения по типам их корневого питания на несколько групп.

Убедительные данные по этому вопросу как в отношении роли органических веществ, так и минеральных соединений (особенно по азоту и фосфору) были приведены в выступлениях Н. А. Красильникова, З. Г. Разумовской, А. А. Образцовой, Е. Ф. Березовой и Я. П. Худякова. Как показало выступление Л. М. Дорошинского, Институт сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ уделяет большое внимание выяснению роли микроорганизмов в питании растений.

Предложения, выдвинутые в докладе Е. Н. Мишустиным о необходимости «инвентаризации» микробов, были поддержаны многими выступавшими. Н. А. Красильников считает, что систематика или «инвентаризация» является одной из насущнейших задач почвенной микробиологии. Нельзя изучать функции микроорганизма, не зная, какому организму эти функции принадлежат. И. А. Мазилкин также указал, что нельзя ограничиваться изучением только наличия микробов в почве. Настало время для установления их индивидуальных свойств, их активности, которую докладчик вполне правильно связывает с уровнем агротехники сельскохозяйственного производства.

Интересные данные, сообщенные В. Ф. Купревичем, показали необходимость изучения ферментативных процессов, вызываемых отдельными микроорганизмами и их группами. Эти материалы свидетельствуют о возможности введения новых биологических показателей (ферментативных), характеризующих почву.

М. Н. Лазарев предложил изучать сообщества микроорганизмов, их экологические группировки. По его мнению, только разобравшись в том, какое значение имеет развитие той или иной группировки в биогеоценозе, можно говорить о доведении анализа до вида; только тогда можно понять функции данного вида и уметь управлять этим организмом.

Выступившие в прениях Е. Ф. Березова, Я. В. Пейве, М. В. Федоров отметили, что наиболее крупным недостатком конференции следует считать отсутствие обобщающего доклада о достижениях почвенной микробиологии. В докладе Е. Н. Мишустина были приведены лишь материалы одной его лаборатории. Между тем необходимость такого обобщенного доклада была очевидна. Упущением Оргбюро конференции явилось недостаточное отражение на конференции одного из центральных вопросов почвенной микробиологии — это вопроса повышения плодородия почвы путем применения бактериальных удобрений. Специального доклада по этому вопросу не было, а в основных докладах Е. Н. Мишустина и П. А. Генкеля он был затронут в общих чертах.

Необходимость усиления исследований в этой области была отмечена в выступлениях С. Н. Муромцева, Н. С. Авдонина, Л. С. Литвинова, Н. А. Красильникова и других. М. В. Федоров обрисовал достижения почвенных микробиологов в области бактериальных удобрений за последние годы. Л. М. Дорошинский, З. Г. Разумовская, А. А. Образцова, А. К. Паносян, Е. И. Квасников и другие указали на большое значение правильного подбора соответствующих местных и активных рас микроорганизмов при внедрении в практику сельского хозяйства бактериальных удобрений. Была отмечена также обязательность создания условий для их эффективного действия.

Большой интерес вызвал доклад К. И. Рудакова по вопросам перегноя и структуры почв, А. А. Имшенецкий отметил большую перспективность исследований в этом направлении. Тем не менее положение, развиваемое в докладе К. И. Рудакова, об отсутствии корневых выделений встретило серьезные возражения. К. И. Рудакову было указано также и на недостаточную изученность исследованных им групп микроорганизмов и на отсутствие разработки систематики протопектиназных бактерий.

И. А. Мазилкин, А. А. Езубчик, И. И. Канивец и многие другие высказали пожелание о расширении и углублении исследований по вопросам, связанным с разрушением и синтезом перегноя, затронутым в докладе М. М. Кононовой.

Не получил должного освещения в основных докладах и вопрос о методах работы с почвенными микроорганизмами (З. Г. Разумовская). Существующие сложные и подчас громоздкие методы не всегда вскрывают действительное состояние жизнедеятельности микроорганизмов почвы. Поэтому совершенно необходима разработка методов, позволяющих разрешать вопрос о реальной деятельности микроорганизмов в естественных условиях.

В своем выступлении З. Я. Лейн (Отдел пропаганды Министерства сельского хозяйства СССР) указала, что почвенная микробиология у нас стала на правильный путь оказания помощи колхозному крестьянству, совхозам и агрономам в деле широкого внедрения травопольной системы земледелия Докучаева — Костычева — Вильямса. Только при изучении деятельности микронаселения станет возможным наметить пути регулирования биологическими процессами почвы в желательном для человека направлении. Тов. Лейн призывала и в дальнейших исследованиях не отрываться от практики, а разрабатывать теоретические вопросы в тесной связи с производством, что в свою очередь будет способствовать дальнейшему развитию науки.

В кратких выводах А. А. Имшенецкий подытожил результаты конференции и отметил, что одним из наиболее существенных условий дальнейшего плодотворного развития почвенной микробиологии является организация комплексных исследований почвы и это должно найти отражение в резолюции.

А. А. Имшенецкий указал на важность разработки единых методов исследования и на необходимость поднять на более высокий уровень самые методы экспериментирования путем непосредственного участия в эксперименте руководящих работников.

С большим подъемом участники конференции приняли приветствие корифею науки, любимому вождю и учителю, лучшему другу советских ученых И. В. Сталину.

Конференцией была принята резолюция, в которой сформулированы первоочередные задачи почвенной микробиологии и намечены основные пути их разрешения.

О. Пушкинская

КОНФЕРЕНЦИЯ ПО БАКТЕРИАЛЬНЫМ УДОБРЕНИЯМ

В Киеве с 24 по 26 января 1952 г. происходила конференция по вопросам бактериальных удобрений, созванная Советом по изучению производительных сил Украинской ССР при АН УССР, Институтом микробиологии АН УССР и Министерством сельского хозяйства УССР.

В работе конференции приняли участие представители министерств: Сельского хозяйства СССР и УССР, Пищевой промышленности УССР, Института микробиологии АН СССР, всесоюзных институтов сельскохозяйственной микробиологии и сахарной свеклы, Института микробиологии и ряда других институтов АН УССР, трех госуниверситетов, четырех сельскохозяйственных институтов, ряда отраслевых научно-исследовательских институтов и станций, передовики сельского хозяйства, Киевский завод бактериальных удобрений, представители прессы — всего 35 предприятий и организаций.

Конференцию открыл вице-президент АН УССР действительный член АН УССР Г. Н. Савин.

Во вступительном слове действительный член АН УССР А. И. Душечкин подвел итоги работ по бактериальным удобрениям, проведенных в УССР за послевоенный период и наметил пути дальнейших исследований в этой области.

С обобщающим докладом «Микробиологические процессы в почве и пути управления ими» выступил член-корр. АН УССР Л. И. Рубенчик. В своем докладе особое внимание он обратил на пути управления почвенными микробиологическими процессами. Доклад Л. И. Рубенчика вызвал оживленные прения.

Вопросы производства бактериальных удобрений и их массового применения были освещены в докладах С. Ф. Стадниковой (Министерство сельского хозяйства СССР) и В. П. Салтынского (Министерство сельского хозяйства УССР).

В докладе Л. М. Доросинского и Г. В. Лопатиной (Всесоюзный ин-т с.-х. микробиологии) был приведен большой и интересный материал по нитрагину и фосфоробактерину. В УССР также проводилось изучение нового бактериального препарата фосфоробактерина, предложенного Всесоюзным институтом сельскохозяйственной микробиологии. Полученные данные говорят о большой эффективности этого препарата в условиях УССР.

С большим интересом был заслушан доклад Е. Н. Мишустина «О районировании бактериальных удобрений». Докладчик особое внимание уделил проблеме экологии микроорганизмов, применяемых при приготовлении бактериальных удобрений. Этот доклад вызвал оживленный обмен мнениями.

На конференции был представлен большой материал по вопросу подбора местных штаммов азотфиксирующих бактерий с целью использования их для приготовления бактериальных удобрений, а также по вопросу приготовления бактериальных удобрений на местах — в колхозах и совхозах.

По азотобактеру и азотобактерину были заслушаны доклады: Института микробиологии АН УССР (Рубенчик, Смалий, Зиновьева, Бершова), Львовского госуниверситета (Литвинов, Гебгардт), Киевского госуниверситета (Рубенчик, Чернобыльска, Смалий), Киевского сельскохозяйственного института (Линчевская), Житомирской научно-исследовательской станции хмелеводства (Маракулин, Зиновьева); по клубеньковым бактериям и нитрагину Украинского института социалистического земледелия (Заремба) и Днепропетровского института зернового хозяйства (Кудзин). В обсуждении докладов приняли участие не только научные работники, но и передовики сельского хозяйства, занимавшиеся применением бактериальных удобрений в производственных условиях. Было показано, что некоторые местные штаммы бактерий оказывают более эффективное действие на урожай сельскохозяйственных растений, чем соответствующие стандартные штаммы. Штамм азотобактера К (Ин-т микробиологии АН УССР) и штамм клубеньковых бактерий для люцерны Киевской № 1 (Украинского ин-та социалистического земледелия) внедрены в производство.

На конференции были сообщены интересные данные об исследованиях по направленному изменению свойств азотобактера. В работах Института микробиологии АН УССР (Зиновьева, Бершова) было показано, что в результате воспитания в соответствующих условиях могут быть получены высокоактивные штаммы.

Повышение эффективности действия азотобактерина путем его гранулирования и гнездового способа применения было показано в докладах Львовского госуниверситета (Литвинов, Гебгардт).

На конференции были доложены результаты работ по применению биопрепаратов под такие важные технические культуры, как сахарная свекла, кок-сагыз, конопля, хмель. В докладе И. Геллера «Применение биопрепаратов под сахарную свеклу» (Всесоюзный ин-т сахарной свеклы) приведены интересные данные многолетних опытов, в которых наряду с азотобактерином и фосфоробактерином испытывалось действие микробных комплексов ризосферы озимой пшеницы, многолетних трав, старых свекляниц. Эти препараты оказали положительное действие на повышение урожая, а некоторые и на сахаристость сахарной свеклы.

О влиянии бактериальных удобрений на урожай и качество кок-сагыза сообщила В. Д. Манзон (Ин-т физиологии растений и агрохимии АН УССР). В вегетационных и полевых опытах значительно увеличился урожай корней кок-сагыза и содержание в них каучука при совместном внесении азотобактерина и фосфоробактерина. Комплексы микроорганизмов ризосферы озимой пшеницы и многолетних трав в этих опытах также дали положительные результаты.

Новые и интересные данные о влиянии азотобактерина на заболеваемость сельскохозяйственных растений бактериальными болезнями сообщила К. И. Бельтюкова (Ин-т микробиологии АН УССР).

В докладе «Бактеризация семян конопли» К. П. Тулайкова (Всесоюзный ин-т лубяных культур) показала, что бактеризация семян конопли бактериями, выделенными с ее корней, способствует увеличению урожая сухой надземной массы и семян. Значительный эффект от бактеризации семян конопли получен на хорошо удобренной почве.

М. М. Бондаренко ознакомил участников конференции с производством бактериальных удобрений в УССР до войны и в послевоенный период. Он осветил перспективы развития производства этих удобрений в связи со строительством нового завода бактериальных удобрений в Киеве.

Всего было заслушано и обсуждено 20 докладов. Конференция подвела итоги проведенных в УССР за послевоенный период работ по бактериальным удобрениям, отметила имеющиеся в этой области достижения, подвергла критике ряд недостатков и приняла развернутый план дальнейших исследований и внедрения в практику наиболее эффективных бактериальных удобрений.

В резолюции конференции указывается на необходимость дальнейшей разработки теоретических основ использования бактериальных удобрений, рациональной технологии их изготовления, обоснованных норм внесения и способов применения, а также на ряд других актуальных вопросов.

В. Т. Смалий

ОТ РЕДАКЦИИ

В нашей стране, успешно осуществляющей переход от социализма к коммунизму, особенно велика и ответственна роль науки. Советская наука призвана всемерно способствовать неуклонному росту всех отраслей народного хозяйства, дальнейшему расцвету нашей культуры и искусства.

Характерной особенностью советской науки является ее тесная связь с практикой, стремление целиком отдаться служению любимой Родине, своему народу, всемерно содействовать росту его благосостояния.

Сталинский принцип единства теории и практики — великая сила советской передовой науки, источник ее огромных успехов.

Марксизм учит, что наука порождена практическими потребностями общества и своим развитием в первую очередь обязана требованиям, предъявляемым производством. Потребности производства постоянно ставят перед наукой новые задачи, способствуя тем самым ее дальнейшему развитию.

Чем теснее наука связана с жизнью, с решением важнейших практических задач, тем лучше она сама развивается.

Наш социалистический строй создал исключительно благоприятные условия для расцвета науки. Наша социалистическая действительность способствует возникновению совершенно новых организационных форм научной работы, новых форм связи науки с практикой, новых форм социалистических взаимоотношений между наукой и трудом Творческая инициатива масс является могучим двигателем социалистического производства и советской науки.

Эта творческая инициатива нашла свое выражение в возникшем по почину ленинградцев движении за содружество работников науки и производства. Это патриотическое движение, возникшее в результате стремления советских людей ускорить и всемерно содействовать развитию всех отраслей промышленности, сельского хозяйства и науки, нашло широкий отклик среди научных работников, стахановцев и инженерно-технических работников.

Творческое содружество уже привело к большим успехам в развитии науки и в деле внедрения результатов научных исследований в народное хозяйство.

Ярким и убедительным подтверждением сказанного является недавно опубликованное постановление Совета Министров СССР о присуждении Сталинских премий за 1951 г. Среди работ, удостоенных этой высокой оценки за выдающиеся изобретения и коренные усовершенствования процессов производства, мы видим многие работы, выполненные в творческом содружестве стахановцев, инженерно-технических работников предприятий и научных работников.

Повседневная практика показывает, как многогранны те конкретные формы, в которых осуществляется творческое содружество людей науки и практики.

Одной из важнейших форм связи науки с производством является проведение научными учреждениями совместных работ с предприятиями на основе договора о содружестве с целью разрешения крупных научных проблем.

Важнейшее значение имеет детальное изучение и обобщение опыта новаторов производства с целью разработки условий для массового его применения, выявления наиболее ценных особенностей в работе новаторов для дальнейшего их развития и усовершенствования. Эта форма содружества имеет немаловажное значение и для работников науки, так как обогащает их передовым опытом стахановской практики.

Большое значение имеет внедрение новых передовых методов работы, обеспечивающих более эффективное использование производственных мощностей и резервов производства, повышение урожайности, улучшение качественных показателей, снижение себестоимости, экономию сырья, материалов и т. д.

Широки, разнообразны и благородны задачи, которые стоят перед советскими микробиологами. Советская микробиология теснейшим образом связана с разнообразными отраслями промышленности, сельского хозяйства и здравоохранения.

Важнейшей задачей советских микробиологов является всестороннее изучение микроорганизмов с целью наиболее эффективного использования их для получения разнообразных ценных продуктов (антибиотики, ферментные препараты, витамины, спирты и органические кислоты и т. д.), для поднятия урожайности полей и успешного выполнения Сталинского плана преобразования природы, для борьбы с инфекционными заболеваниями людей, животных и растений, для предохранения продуктов и материалов от порчи, вызываемой микробами.

В то время как реакционные американские «ученые» микробиологи, прислужники поджигателей войны, направляют свои усилия на использование микробов для уничтожения людей, сельскохозяйственных животных и посевов с тем, чтобы удовлетворить человеконенавистнические стремления своих хозяев-империалистов, советские микробиологи все свои знания и силы отдают служению человечеству, добиваются повышения благосостояния трудящихся и скорейшего создания в нашей стране изобилия продуктов и предметов потребления.

Наша микробиология служила и служит делу жизни, прогресса, коренным интересам человечества. Рука об руку со всеми советскими учеными наши микробиологи включились в патриотическое движение за творческое содружество людей науки и практики. В этой области уже накопился определенный опыт.

С целью широкого обмена накопленным в разнообразных областях микробиологии опытом содружественной работы науки с производством и по изучению и обобщению достижений новаторов производства и оказанию им помощи журнал «Микробиология» предполагает систематически освещать на своих страницах связь микробиологов с производством.

В настоящем номере помещается статья руководителя микробиологической лаборатории Всесоюзного научно-исследовательского института консервной промышленности А. И. Рогачевой, в которой излагается опыт совместной работы научных работников Института с производственниками консервной промышленности.

Редакция журнала «Микробиология» обращается ко всем руководителям научных учреждений и предприятий, к научным работникам, к работникам заводских лабораторий и опытных станций, к инженерно-техническим работникам, агрономам, стахановцам промышленности и сельского хозяйства с просьбой поделиться на страницах нашего журнала с имеющимся у них конкретным опытом из области микробиологии по творческой, содружественной связи науки с практикой, по изучению и обобщению опыта новаторов производства и высказать свои соображения, предложения, которые могли бы способствовать дальнейшему развитию этой формы социалистических взаимоотношений между наукой и практикой.

О СОДРУЖЕСТВЕ В РАБОТЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ ВСЕСОЮЗНОГО НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА КОНСЕРВНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ С КОНСЕРВНЫМ ПРОИЗВОДСТВОМ

Микробиологическая лаборатория Всесоюзного научно-исследовательского института консервной промышленности постоянно проводит работы в тесной связи с производством. Так, в течение ряда лет Лабораторией Института проводились исследования микрофлоры консервов в отношении ее термоустойчивости на различных средах из консервов. Полученные результаты позволили разработать новые, более рациональные режимы стерилизации консервов, которые затем проверялись в производственных условиях. Организационно эта работа проводилась следующим образом: научные сотрудники Лаборатории (Апт, Матрозова, Рогачева) выезжали на консервные заводы, где на технических совещаниях, а иногда и на общих собраниях коллективов заводов знакомили заводских работников с задачами и обоснованиями предстоящей совместной работы. В производственной проверке новых режимов стерилизации обычно непосредственное участие принимали микробиологи заводов. По окончании работы проводилось ее обсуждение на техническом совещании коллектива завода. Работа подвергалась критическому разбору, обсуждались отдельные вопросы, составлялись акты о проведенной работе. Только после этого работа считалась апробированной производством. В таком порядке были разработаны почти все режимы стерилизации консервов, которыми в настоящее время пользуется консервная промышленность.

Так же была проведена тема по разработке способов консервирования маслин (зеленых и черных).

Вначале был изучен процесс квашения маслин в лабораторных условиях и в Лаборатории Маштагинского опорного пункта нашего института (Азербайджанская ССР). После этого работа по квашению и консервированию маслин была перенесена на консервные заводы (Сочинский завод и Одесский завод имени Ленина), где научный сотрудник Института т. Апт совместно с работниками предприятий проверила и уточнила технологические процессы. В результате этого цеховой персонал заводов, на которых раньше не существовало производства консервированных маслин, быстро и успешно освоил все технологические процессы.

Развернувшееся в нашей стране патриотическое движение за творческое содружество работников науки и производства способствовало дальнейшему углублению связи Лаборатории с производством, развитию коллективной творческой разработки вопросов.

Одним из примеров такого коллективного творческого содружества может служить разработка нового метода бактериологического контроля производства консервов. Установленные Лабораторией Института (А. И. Рогачева) предпосылки для нового метода бактериологического контроля консервов были изложены в проекте методической инструкции, которая, после предварительного ее обсуждения с работниками лабораторий консервных заводов, была практически проверена одновременно на пяти предприятиях. По окончании проверки полученные результаты были обсуждены на совещании инженерно-технических работников Треста и всех входящих в него заводов. Положительная оценка проведенной работы позволила расширить рамки дальнейшей проверки, и к ней уже было привлечено свыше 60 заводских лабораторий. При проведении этой работы заводскими лабораториями и инженерами был внесен ряд ценных замечаний по предложенной методике. Обширные материалы, полученные во время этой работы, были затем обработаны в Институте и явились ценным подтверждением правильности нового метода микробиологического контроля, внедренного впоследствии в производство.

В порядке творческого содружества была также проведена экспериментальная работа по исследованию процесса производственного термостатирования консервов. В этой работе самостоятельную творческую работу выполнила микробиолог Украинского консервного треста Прохорович. В работе по заданию Института активно участвовали микробиологи заводов Савченко, Ярцева, Олексич и Мочалина

Можно указать еще на одну работу, проведенную Микробиологической лабораторией в содружестве с работниками производства. Микробиологи восьми консервных заводов: Евдокимов, Марусич, Савченко, Сычева, Эндриксон, Бакчеева, Полонская и Лучанская по единой методике, разработанной в Институте (т. Матрозовой), изучили микрофлору на продуктах и на аппаратуре в процессе консервирования. Обобщение и обработка материалов по этой совместной работе были проведены в Институте Матрозовой, Апт и Нехотеновой. Полученные результаты позволили выявить санитарные условия производства консерва и установить с этой точки зрения достоинства и недостатки различного оборудования.

В текущем году наша лаборатория предполагает в содружестве с микробиологами заводов разработать наилучшие режимы очистки и мойки некоторых агрегатов, что имеет весьма важное значение в консервном производстве.

Установившаяся связь Лаборатории Института с заводскими лабораториями не порывается после окончания той или иной работы. Можно привести следующий характерный пример. В 1949 г. Институтом консервной промышленности была проведена выездная сессия Научного совета на заводах Украины и Молдавии. На сессии были заслушаны доклады научных работников о новых достижениях Института в области консервной промышленности, а также сообщения работников производства о рационализаторских предложениях. На этой сессии был заключен соцдоговор о проведении ряда работ в содружестве с инженерно-техническими работниками и стахановцами Украинского и Молдавского консервтрестов. В числе этих работ находилась и работа Микробиологической лаборатории по новому методу бактериологического контроля. Внедрение цехового бактериологического контроля консервов, позволяющего снизить брак продукции, наша лаборатория обязалась провести совместно с лабораториями херсонских и тираспольских консервных заводов.

Это обязательство было выполнено как Микробиологической лабораторией Института, так и лабораториями указанных заводов.

Однако и после окончания работы заводские микробиологи продолжают систематически проводить работу и присылают в Институт хорошо оформленные отчеты с анализами полученных данных и предложениями по улучшению санитарно-технологического процесса.

Приведенные примеры указывают на ценность и большое значение совместной творческой работы научных работников с работниками производства.

В результате такого содружества:

1) легче внедряются законченные работы Института;

2) работники производства знакомятся с новыми научными достижениями Института;

3) работы Института подвергаются широкой деловой критике, очень важной потому, что она помогает правильно оценить практическую ценность и применимость того, что дает Институт;

4) в результате содружества научные работники лучше узнают запросы производства. Нередко те или иные темы принимаются Институтом для разработки.

Анализируя работы, проведенные в порядке содружества, мы не считаем, что в них нет недостатков. Необходимо продолжать работу в этом направлении, углублять связи с работниками заводов, искать новые, более совершенные формы вовлечения работников производства в совместную работу, смелее привлекать их к самостоятельному решению отдельных вопросов. Заводские лаборатории в научной работе должны стать опорными пунктами Института.

Институт в свою очередь должен способствовать научному росту работников производства, должен оказывать помощь в выборе тем и проведении диссертационных работ.

А. И. Рогачева

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

ИМЕЮТСЯ В ПРОДАЖЕ КНИГИ:

Гиляров М. С. Особенности почвы как среды обитания и ее значение в эволюции насекомых. 1949. 279 стр. с илл. Ц. 16 р. 80 к. в переплете.

Горюнова С. В. Химический состав и прижизненные выделения синезеленой водоросли Oscillatoria splendida Grew. 1950 г. 157 стр. с илл. Ц. 6 р. 40 к.

Иерусалимский Н. Д. Азотное и витаминное питание микробов. 1949 г. 167 стр. Ц. 5 р. 60 к.

Мишустин Е. Н. Термофильные микроорганизмы в природе и практике. 1950 г, 391 стр. Ц. 16 р. 70 к. в переплете.

Памяти академика Алексея Алексеевича Заварзина. Сборник статей (по эволюционной гистологии). 1948. 542 стр. с илл. Ц. 36 р. в переплете.

Познанин Л. П. Экологическая морфология птиц, приспособленных к древесному образу жизни. (Труды Института морфологии животных им А. Н. Северцова. Том III, вып. 2). 1949. 111 стр. Ц. 6 р. 80 к.

Проблемы биохимии в мичуринской биологии. Сборник первый. 1949. 186 стр. Ц. 6 р. 40 к.

Северцов С. А. Проблемы экологии животных. Неопубликованные работы. Том 1. 1951. 171 стр. Ц. 12 р. в переплете.

Сухов К. С. и Вовк А. М. Столбур пасленовых. 1949. 101 стр. с илл. Ц. 4 р. 40 к.

Труды Байкальской лимнологической станции. Том XII. 1948. 160 стр. Ц. 10 р. 40 к. в переплете.

Труды Байкальской лимнологической станции. Том XIII. 1951. 242 стр. с илл. Ц. 15 р. 20 к. в переплете.

Труды Всесоюзного гидробиологического общества. Том II. 1950. 286 стр. Ц. 15 р. 20 к.

Труды Института генетики № 15. 1948. 207 стр. с илл. Ц. 11 р. 20 к.

Труды Института генетики № 16. 1949. 205 стр. с илл. Ц. 11 р. 20 к.

Труды Института генетики № 17. 1950. 252 стр. с илл. Ц. 13 р. 20 к.

Труды Института генетики № 18. 1950. 259 стр. с илл. Ц. 13 р. 60 к.

Труды Севастопольской биологической станции им. А. О. Ковалевского. Том VI. 1872—1947. 439 стр. с илл. Ц. 28 р. в переплете.

То же. Том VII. 1950. 255 стр. с илл. Ц. 16 р. в переплете.

Книги продаются в магазинах «Академкнига», а также высылаются по почте наложенным платежом.

Заказы адресовать: Москва, Б. Черкасский пер., 2, Контора «Академкнига».

СОДЕРЖАНИЕ

От редакции. Итоги дискуссии по вопросам селекции микроорганизмов . . 257
Н. М. Митюшова. О необходимости углекислоты для бактерий, окисляющих сорбит в сорбозу 265
С. А. Коновалов. Определение дозировок азота для питания дрожжей . . 273
В. Н. Шапошников, И. Л. Работнова, Г. А. Ярмола и В. М. Кузнецова. О развитии плесневых грибов за счет натурального каучука . . 280
З. Ф. Теплякова. Новые виды галофильных целлюлозоразрушающих бактерий 283
М. Р. Биркель. Формирование прочной структуры почвы за счет разлагающегося клевера 290
И. Е. Минкевич и А. Н. Климов. Химическая природа антибиотиков, выделяемых картофельной палочкой 293
Л. И. Ярмоленко и М. И. Нахимовская. Бактерия из групп Bac. mesentericus — антагонистактиномицетов 300
М. С. Полонская. Антибиотические вещества ацидофильных бактерий . . . 303
Е. В. Дианова и А. А. Ворошилова. Закономерности развития сапрофитных бактерий в процессе самоочищения загрязненных рек 311
В. М. Богданов. Применение культур дрожжей в маслоделии 321
М. С. Лойцянская и Н. А. Мовчан. О взаимоотношениях уксуснокислых бактерий и уксусных угриц 330
Т. И. Нехотенова. К методике анализа консервов 336
Г. М. Кублановская. Об использовании актиномицетов-антагонистов против фузариозного увядания хлопчатника 340
М. В. Федоров. Об аммиаке как первичном продукте фиксации молекулярного азота бактериями (Обзор) 348
Б. Е. Райков. Об одной неизвестной работе Л. С. Ценковского (К истории микробиологии в России) 360
Рефераты 367
Критика и библиография 370
Хроника 384

Т-03460 Подписано к печати 27. V. 1952 г. Печ. л. 11,64 + 1 вкл.
Уч.-изд. л. 14,4 Формат бумаги 70×108¹/₁₆. Бум. лист. 4¹/₄ Тираж. 5775 экз. Зак. 248

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.

К СВЕДЕНИЮ АВТОРА

Статьи, представляемые в редакцию, должны быть тщательно отредактированы в рукописи. Сообщаемые в статье результаты экспериментальных исследований должны быть изложены кратко и ясно, а в конце статьи должны быть выводы. Никакие исправления в корректуре против рукописи не допускаются.

Рукопись, в том числе и литература, должна быть четко переписана на машинке на одной стороне листа писчей бумаги с двумя интервалами. Объем представляемых работ, включая таблицы и литературу, не должен превышать 14—15 страниц, перепечатанных на машинке. С левой стороны листа должны быть оставлены чистые поля (3—4 см). В редакцию посылается первый, перепечатанный на машинке, экземпляр. Страницы рукописи должны быть перенумерованы единой нумерацией, включая основной текст, таблицы, литературу и т. д. Обозначение за одним номером нескольких страниц (например 21а, 21б) не допускается. В конце рукописи обязательно должны быть собственноручная подпись автора, название учреждения, где выполнена работа, и точный его адрес.

Таблицы должны находиться в соответствующих местах рукописи и в тексте на них должны быть ссылки. Подзаголовки таблиц должны быть краткими, но их необходимо писать полностью, без сокращений.

Количество иллюстраций должно быть минимальным, они должны быть совершенно отчетливыми и выполнены тушью на белой бумаге или на кальке. На полях рукописи указывается место рисунка, а в тексте на него дается ссылка. Фотографии печатаются только при абсолютной их необходимости, причем они должны быть контрастными и в черных тонах. На микрофотографиях должно быть указано увеличение, при котором произведен снимок.

На обороте каждого рисунка должны быть написаны простым карандашом: фамилия автора, заглавие статьи, номер рисунка и страница рукописи, к которой он относится. Подписи к иллюстрациям даются на особом листе с указанием номеров рисунков.

Статья должна содержать результаты собственных исследований автора, и поэтому в ней разрешается приводить только очень краткие ссылки на литературу.

Приводить названия цитируемых работ в тексте статьи или в сносках нельзя. Вся литература должна быть сведена в особый список, помещаемый в конце статьи. Перечень литературы приводится в алфавитном порядке авторов и нумеруется; для русских и иностранных работ составляются самостоятельные алфавитные списки. Ссылаться на неопубликованные в печати работы и устные сообщения не разрешается.

Отдельные работы одного и того же автора располагаются в хронологической последовательности; в случае наличия у автора нескольких работ, изданных в одном году, они нумеруются строчными буквами алфавита (напр. 1927a; 1927b, 1927c).

В списках литературы должны даваться следующие данные: а) фамилия, б) инициалы, в) название работы, г) сокращенное общепринятое название журнала (для книги — место издания), д) том, страница и год.

Фамилии иностранных авторов при цитировании в статье в первый раз даются как на русском, так и на иностранном языке, а при дальнейших ссылках только на русском языке. Одновременно с фамилией цитируемого автора в скобках указывается его порядковый номер по списку литературы. Помещение в списке литературы всех цитируемых в статье работ — обязательно. Приводить в списке литературы работы, не упоминаемые в тексте, не разрешается.

Сокращение слов, имен, названий, как правило, не допускается. Разрешаются лишь общепринятые сокращения — различных мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все меры должны даваться в метрической системе, а температура по шкале Цельсия.

Рукописи, оформленные без соблюдения настоящей инструкции, будут возвращаться авторам для исправления.

Если автор в связи с вносимыми исправлениями задержит рукопись свыше одного месяца, статья будет считаться в дальнейшем как поступившая вновь.

Редакция.